



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO**  
**CAMPUS DIADEMA**



**LILIAN PINHEIRO DE LIMA CILLI**

**ESTABILIDADE OXIDATIVA DE HAMBÚRGUER DE SALMÃO  
ENRIQUECIDO COM FIBRA UTILIZANDO FARINHA DE UVA E AVEIA**

**DIADEMA**

**2018**

LILIAN PINHEIRO DE LIMA CILLI

ESTABILIDADE OXIDATIVA DE HAMBÚRGUER DE SALMÃO  
ENRIQUECIDO COM FIBRA UTILIZANDO FARINHA DE UVA E AVEIA

Dissertação apresentada como exigência para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, ao Programa de Pós-Graduação Strictu Sensu do Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas da Universidade Federal de São Paulo – *Campus* Diadema.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Anna Cecilia Venturini

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiana Maria Pedroso Yoshida

DIADEMA

2018

Cilli, Lilian Pinheiro de Lima

**Estabilidade oxidativa de hambúrguer de salmão enriquecido com fibra utilizando farinha de uva e aveia** - Diadema, 2018.

82 f.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós - Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de São Paulo, Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas - Campus Diadema, 2018.

Orientadora: ANNA CECILIA VENTURINI

Coorientadora: CRISTIANA MARIA PEDROSO YOSHIDA

1. Farinha de uva. 2. Antocianinas. 3. TBARS. 4. "minced fish" 5. salmão do Atlântico. I. Venturini, Anna Cecília. II. Pedroso Yoshida, Cristiana Maria. III. Título. CDD 664.9496

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esse trabalho a minha família, por estarem presentes em todos os dias da minha vida.

As minhas orientadoras Profa. Dra. Anna Cecilia Venturini e Profa. Dra. Cristiana Maria Pedroso Yoshida, por acreditarem em mim e ensinar a caminhararmos juntos.

Obrigada por serem essas pessoas especiais, um presente de Deus.

Essa é uma vitória de todos, muito obrigada por tudo!

Amo vocês!!!

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus e a nossa Senhora, pela minha saúde, proteção e vida.

Aos meus queridos pais Arnaldo e Elza, pelos ensinamentos da fé, educação, apoio pelas minhas decisões de crescimento profissional, pessoal e o amor.

Ao meu marido Carlos, meu amor, amigo e companheiro e meus filhos Matheus e Beatriz, a razão de viver e amor.

As minhas queridas orientadoras, profa Dra Anna Cecília Venturini e profa Dra Cristiana Maria Pedroso Yoshida, pela oportunidade, acolhimento, amizade, ensinamentos, exemplo de humildade e profissionalismo, pela dedicação em todos os momentos desse trabalho, fazendo sempre o melhor para o meu crescimento profissional e pessoal, minha eterna gratidão.

À profa Dra Patrícia Sinnecker, pelos ensinamentos, tranquilidade, amizade e apoio nas análises de extrema importância nesse trabalho, minha eterna gratidão.

Ao prof Dr Matheus Boeira Braga, pelos ensinamentos, oportunidade, paciência, apoio para seguir em frente, amizade, minha imensa gratidão.

À Universidade Federal de São Paulo, campus Diadema pelo acolhimento e conhecimentos para a minha formação.

Aos parceiros Marcomar e Superbom pela disponibilidade da matéria prima para a realização desse trabalho.

À prof Dra Rosemary Aparecida de Carvalho da USP – FZEA, pelos ensinamentos e apoio nas análises de extrema importância nesse trabalho, minha gratidão.

Ao prof Dr Roberto Rodrigues Ribeiro, pela minha formação acadêmica, amigo de muitos anos, sempre acolhendo e orientando.

Ao prof Dr José Alves, pela minha formação acadêmica, amizade e orientações.

Ao prof Dr João Paulo dos Santos Fernandes, pela oportunidade, ensinamentos, sugestões e amizade.

À profa Dra Cristiane Rodrigues Pinheiro Neiva, do Instituto de Pesca – Santos, pelos ensinamentos, apoio nas análises experimentais, oportunidade e amizade.

À prof Dra Patricia Santos Lopes, pela atenção, ensinamentos, sugestões, tranquilidade, alegria, amizade e apoio nas análises microbiológicas.

Ao prof Dr Márcio Adreano Andréo, pelos ensinamentos, amizade e pelo uso de seu laboratório.

Ao prof Dr Newton Andréo Filho, pelos ensinamentos e pelo uso de seu laboratório.

À Luana Contini, pelo apoio, segurança, amizade, responsabilidade, sugestões, dedicação e colaboração nesse trabalho.

À Letícia de Almeida pelo auxílio técnico nas análises microbiológicas e amizade.

À profa Dra Fabiana Perrechil Bonsanto, pela amizade, auxílio no laboratório, ensinamentos, apoio e dedicação.

À profa Dra Vânia Rodrigues, pela amizade, ensinamentos e apoio.

Aos amigos da equipe Uva: Beatriz, Amani, e Paulo pelo imenso carinho, amizade, apoio e colaboração.

Aos amigos do nosso laboratório Bionat pela amizade, dedicação e companheirismo.

Aos amigos: Fúlvio, Camila, Alessandra, Gabriela, Rosinês e Jorge Américo, pela amizade, apoio e importante colaboração nesse trabalho.

Aos amigos do Mestrado, pela amizade, alegrias, incentivo e apoio.

As minhas amigas do mestrado Mayra, Thalita e Mayara, pela amizade, apoio, colaboração e paciência.

Aos funcionários do departamento de apoio técnico, pela atenção, dedicação, amizade e apoio.

Ao meu irmão Laércio, cunhada Salete e sobrinhos Carolini e André, pelo apoio, alegrias, sugestões e amor.

Aos meus tios e primos que tanto amo-os.

Aos meus queridos Amigos para sempre: Rosely e Antonio Carlos, Mônica e Marcelo, Luciana e Júlio, Ana Luisa e Wilson, Ana Lúcia e José Homero, Melissa e Alexandre, Luciana e Fernando, Fabiana e Daniel, Ivani e Henrique, Flávia e Robério, por estarem presentes nas alegrias e tristezas.

As minhas amigas: Célia Ap. Salvador, Sandra Ventura, Jucimara Faria, Marlete Ribeiro e Patricia Siqueira pela amizade, alegrias e apoio.

Esse trabalho só foi possível, graças a amizade e colaboração de todos. Sozinhos não representamos muito, mas unidos podemos avançar horizontes. Sou grata e muito feliz por encontrar pessoas especiais como vocês nesta vida.

# EPÍGRAFE

*Desejo que você*

*Não tenha medo da vida, tenha medo de não vive-la.*

*Não há céu sem tempestades, nem caminhos sem acidentes.*

*Só é digno do pódio quem usa as derrotas para alcançá-lo.*

*Só é digno da sabedoria quem usa as lágrimas para irrigá-la.*

*Os frágeis usam a força; os fortes, a inteligência.*

*Seja um sonhador, mas una seus sonhos com disciplina.*

*Pois sonhos sem disciplina produzem pessoas frustradas.*

*Seja um debatedor de idéias. Lute pelo que você ama.*

Augusto Cury



## RESUMO

O bagaço da uva é um descarte da industrialização de vinhos e sucos com alto potencial antioxidante devido à presença de compostos fenólicos e antocianinas remanescentes nesse resíduo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de bagaço de uva desidratado sobre a oxidação lipídica de hambúrguer de salmão congelado a  $-18^{\circ}\text{C}$  por 6 meses. Duas concentrações de farinha de bagaço de uva (FBU) foram testadas FBU (1%), FBU (2%) e as características químicas, físico-químicas e sensoriais dos produtos foram comparadas com hambúrgueres sem antioxidante (Controle) e com antioxidante sintético (0,01% BHT). O bagaço da uva Isabel (cascas e sementes) desidratado por convecção do ar a  $40^{\circ}\text{C}$  por 72 horas apresentou teores de composto fenólicos (669,88 mg GAE/100g), antocianinas (36,45 mg cianidina 3-glicosídeo/100g) e fibra alimentar (31,79 %) e o pó por *spray dryer* (cascas) apresentou teores de compostos fenólicos nessas condições (ensaio 5) de (162,63 mg GAE/100g), antocianinas (16,58mg cianidina 3-glicosídeo/100g). Os extratos etanólicos do bagaço desidratado apresentaram alta atividade antioxidante avaliada pelos métodos DPPH (73,31 %) e ABTS (236,81  $\mu\text{mol}$  de Trolox/g). A citotoxicidade *in vitro* da farinha de uva também foi avaliada usando células BALB/c 3T3 e os resultados mostraram que os extratos aquosos foram não tóxicos. A farinha de uva mostrou potencial antioxidante superior ao do antioxidante sintético BHT para retardar a oxidação lipídica do hambúrguer de salmão durante armazenamento a  $-18^{\circ}\text{C}$  por 6 meses, e o efeito antioxidante foi dose-dependente. Os hambúrgueres com farinha de bagaço de uva apresentaram menor ( $P < 0,05$ ) formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), exibindo efeito protetor superior ao observado com o antioxidante sintético BHT. A adição de 1% de farinha de uva não alterou significativamente o perfil de textura das amostras que foi similar ao dos tratamentos Controle e BHT. A adição de farinha de uva alterou significativamente ( $P < 0,05$ ) a cor instrumental das amostras dos hambúrgueres ( $< L^*$ ,  $< C^*$  e  $< h^*$ ). Apesar da maior preferência dos consumidores pela cor e aparência dos hambúrgueres dos tratamentos Controle e BHT, todas as amostras de todos os tratamentos apresentaram altos índices de aceitação sensorial (notas sensoriais  $> 6$  para todos os atributos avaliados).

**Palavras-chave:** Farinha de uva, antocianinas, TBARS, pescado moído, salmão do Atlântico.

## ABSTRACT

The agroindustrial residue of the grape byproduct is a discard of the industrialization of wines and grape juice with high antioxidant potential due to the presence of phenolic compounds and remaining anthocyanins in this residue. The objective of this work was to evaluate the effect of the addition of dehydrated grape pomace on the lipid oxidation of frozen salmon burger at  $-18^{\circ}\text{C}$  for 6 months. Two concentrations of FBU (1%), FBU (2%) and the chemical, physicochemical and sensorial characteristics of the products were compared with burgers without antioxidant (Control) and synthetic antioxidant (0,01% BHT). The pomace of the Isabel grape (peels and seeds) dehydrated by air convection at  $40^{\circ}\text{C}$  for 72 hours presented higher phenolic compound contents (669,88mg GAE/100g), anthocyanins (36,45mg cyaniding 3-glycoside/100g) and dietary fiber (31,79%) and the powder by *spray dryer* showed phenolic content in there conditions (ensaio 5) of (162,63mg GAE/100g), anthocyanins (16,58mg cyaniding 3-glycoside/100g). The ethanolic extracts of the dehydrated pomace showed high antioxidant activity evaluated by the DPPH (73,31%) and ABTS (236,81  $\mu\text{mol}$  de Trolox/g) methods. In vitro cytotoxicity of grape flour was also evaluated using BALB/c 3T3 cells and the results showed that the aqueous extracts were non-toxic. The grape flour showed higher antioxidante potential than synthetic antioxidante BHT to delay lipid oxidation of salmon Burger during storage at  $-18^{\circ}\text{C}$  for 6 months, and the antioxidante effect was dose-dependent. The hamburger with grape marc flour presented lower ( $P<0,05$ ) formation of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), showing a protective effect superior to that observed with the synthetic antioxidant BHT. The addition of 1% of grape flour did not significantly alter the texture prolife of the samples that was similar to that of the Control and BHT treatments. The addition of grape flour significantly altered ( $P<0,05$ ) the instrumental color of the hamburger samples ( $< L^*$ ,  $< C^*$  e  $< h^*$ ). Despite the greater preference of consumers for the color and appearence of the burgers of Control and BHT treatments, all the samples of all the treatments presented high sensory acceptance índices (sensory notes  $> 6$  for all atributes evaluated).

**Key-words:** Grape flour, anthocyanins, TBARS, minced fish, Atlantic salmon.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Consumo global de proteína animal .....	19
Figura 2 - Estrutura química da astaxantina e da cantaxantina .....	20
Figura 3 - Mudanças de estruturas das antocianinas em função do pH do meio.....	26
Figura 4 - Fluxograma de análises.....	33
Figura 5 - Ficha modelo para teste de aceitação.....	46
Figura 6 - Influência das condições operacionais na concentração de antocianinas da farinha. .....	49
Figura 7 - Bagaço de uva descongelado (casca e semente): (a) antes do processo de secagem em leito fixo, (b) farinha obtida após secagem e moagem. ....	50
Figura 8 - Microplaca usada no teste de citotoxicidade <i>in vitro</i> pelo método de incorporação do corante vermelho neutro. ....	53
Figura 9 - Viabilidade celular da farinha de uva no teste de citotoxicidade <i>in vitro</i> pela incorporação do corante vermelho neutro. ....	54
Figura 10 - Histograma de distribuição de tamanho de partícula da farinha proveniente.....	57
Figura 11 - Hambúrgueres de salmão: (a) Controle, (b) com adição de 0,01% de BHT, c) com adição de 1,0% de FBU e (d) com adição de 2,0% de FBU.....	58
Figura 12 – Efeito da farinha do bagaço de uva (FBU) sobre o teor de malonaldeído (MDA) (mg / kg) de hambúrgueres de salmão após armazenamento congelado por até 180 dias. ....	63
Figura 13 – Amostras de hambúrguer de salmão enriquecido com fibra utilizando farinha de bagaço de uva e aveia: (a) controle, (b) BHT, (c) 1% FBU, (d) 2% FBU .....	64

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Antioxidantes naturais aplicados em diferentes espécies de pescado e produtos processados.....	24
Tabela 2 - Aplicação de resíduos agroindustriais em produtos cárneos.....	31
Tabela 3 – Matriz do Planejamento Experimental com variáveis independentes: temperatura do ar de entrada (Te), vazão de alimentação da pasta (Wf) e concentração mássica de agente carreador (CA).....	35
Tabela 4 - Formulação dos hambúrgueres de salmão.....	36
Tabela 5 – Matriz do Planejamento experimental com as respostas concentração (Cant.) e retenção das antocianinas (Rant.) do pó de bagaço de uva obtido por secagem em spray-dryer. ....	47
Tabela 6 – Concentração de antocianinas, compostos fenólicos e potencial antioxidante da farinha de uva. ....	50
Tabela 7 – Valores médios da composição química da farinha do bagaço de uva.....	54
Tabela 8 - Caracterização do bagaço de uva. ....	55
Tabela 9 - Caracterização do hambúrguer de salmão cru e assado (n=3) com adição de farinha de bagaço de uva (FBU). ....	58
Tabela 10 - Composição centesimal dos hambúrgueres de salmão contendo FBU e BHT (base úmida).....	60
Tabela 11 - Propriedades de textura (n=10) de hambúrguer de salmão assado adicionado de farinha de uva. ....	61
Tabela 12 - Contagens bacterianas (UFC/g) das amostras de hambúrguer de salmão.....	64
Tabela 13 - Análise sensorial* de aceitação (n=110) de hambúrguer de salmão adicionado de farinha de uva (média $\pm$ desvio-padrão). ....	65
Tabela 14 - Índice de aceitabilidade (%) para as diferentes formulações de hambúrguer de salmão.....	66
Tabela 15 - Intenção de compra (%) para as diferentes formulações de hambúrguer de salmão. ....	66

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

BHT - Hidroxitoluneo butilado

AOAC - Association of Official Analytical Chemists

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

FBU – Farinha de Bagaço de Uva

CFU – unidades formadoras de colônias

GAE – ácido gálico

TEAC – trolox

Cs – concentração de sólidos

TBARS – substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

b.s – base seca

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
2.1 Salmão .....	18
2.2 Filé de Salmão do Atlântico ( <i>Salmo salar</i> ) .....	21
2.2.1 Características Microbiológicas .....	21
2.2.2 Características Químicas .....	22
2.2.3 Oxidação lipídica.....	22
2.2.3.1. Antioxidantes.....	23
2.3 Antocianinas .....	24
2.4 Bagaço de uva.....	27
2.5 Fibras Alimentares e Aveia .....	28
2.5.1 Fibras alimentares em produtos cárneos.....	29
3 OBJETIVO GERAL.....	32
3.1 Objetivos específicos.....	32
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
4.1 Etapa 1: Pó de uva obtido por atomização .....	34
4.1.1 Obtenção e preparação da polpa de casca de uva.....	34
4.1.2 Secagem da polpa da casca de uva em <i>spray dryer</i> .....	34
4.2 Etapa 2: Secagem do bagaço de uva (casca e semente) em estufa com circulação de ar .....	35
4.3 – Etapa 3: Processamento e Formulação do hambúrguer contendo farinha de uva .....	35
4.4 Análises Físico-químicas, Microbiológicas e Sensoriais .....	37
4.4.1 Determinação da concentração e retenção de antocianinas.....	37
4.5 Determinação do potencial antioxidante da farinha de uva.....	38
4.5.1 Extração etanólica dos compostos fenólicos do pó obtido por <i>spray dryer</i> e da farinha de uva obtida por secagem em estufa. ....	38
4.5.2 Determinação de compostos fenólicos .....	38
4.5.3 Método ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina) 6-ácido sulfônico) .....	39
4.5.4. Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazina) .....	39
4.5.5 Citotoxicidade <i>in vitro</i> da farinha de uva .....	39
4.6 Composição centesimal .....	40
4.7 Determinação da cor instrumental.....	41

4.8 Determinação do pH.....	41
4.9 Diâmetro de partícula .....	41
4.10 Capacidade de Retenção de Água (CRA).....	41
4.11 Atividade de água (Aa).....	42
4.12 Acidez titulável.....	42
4.13 Análise do perfil de textura (TPA) .....	43
4.14 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) .....	43
4.15 Caracterização microbiológica .....	43
4.16 Etapa 4: Análise sensorial.....	44
4.17 Análise estatística .....	45
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	47
5.1 ETAPA 1: Pó do resíduo de uva – secagem por atomização .....	47
5.1.1 Determinação da concentração e retenção de antocianinas e compostos fenólicos do pó do bagaço de uva obtido em spray-dryer.....	47
5.2 ETAPA 2: Farinha de bagaço de uva – leite fixo.....	49
5.2.1 Determinação da concentração e retenção de antocianinas e compostos fenólicos da farinha do bagaço de uva obtido em estufa com circulação de ar .....	49
5.2.2 Concentração de antocianinas e compostos fenólicos.....	50
5.2.3 Potencial Antioxidante (DPPH e ABTS).....	52
5.2.4 Teste <i>in vitro</i> da citotoxicidade da farinha de bagaço de uva.....	53
5.2.5 Composição química da farinha do bagaço de uva .....	54
5.2.6 Características físico-químicas da farinha do bagaço de uva .....	55
5.2.7 Diâmetro de partícula da farinha de bagaço de uva (FBU) .....	56
5.3 ETAPA 3 – Hambúrguer de salmão com Farinha de bagaço de uva .....	57
5.3.1 Características físico-químicas do hambúrguer de salmão cru e assado com adição de farinha do bagaço de uva .....	57
5.3.2 Composição química do hambúrguer de salmão cru e assado com adição de farinha do bagaço de uva .....	59
5.3.3 Análise do perfil de textura (TPA) .....	60
5.3.4 Oxidação lipídica (TBARS) .....	62
5.3.5 Caracterização microbiológica dos hambúrgueres de salmão.....	63
5.4 ETAPA 4: Análise Sensorial .....	64
6 CONCLUSÕES .....	68
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	69

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, muita atenção tem sido dada às funções fisiológicas dos alimentos, devido a preocupações crescentes com a saúde. A grande quantidade de dados científicos disponíveis sobre a relação entre a ingestão alimentar e a incidência de doenças tem levado a um interesse em alimentos que forneçam benefícios fisiológicos adicionais. O pescado é um alimento de alto valor nutritivo e propriedades funcionais, que contém proteínas de elevado valor biológico e de fácil digestão, e lipídeos compostos por ácidos graxos poliinsaturados de altos teores de cálcio e fósforo, além de cobre, zinco, ferro e selênio. O pescado contém vitaminas lipossolúveis A e D, importantes coadjuvantes na calcificação óssea e vitaminas do complexo B, que atuam no metabolismo energético e de macro nutrientes.

O consumo de pescado no Brasil vem crescendo a cada ano, devido aos estímulos à aquicultura. De acordo com o Ministério da Agricultura, o consumo de pescado no Brasil - de 14,4 kg por habitante/ano - já superou o recomendado pela Organização Mundial da Saúde, que é 12,0 kg, por habitante, a cada ano (BRASIL, 2017), mas ainda tem um consumo bem inferior à média mundial de 20,0 kg per capita (SEA FOOD BRASIL, 2016). O salmão corresponde a cerca de um quinto deste mercado, impulsionado pela crescente demanda por alimentos mais saudáveis. O Chile produz 25% do salmão consumido no mundo e é o segundo maior produtor, atrás apenas da Noruega. O Brasil é o segundo maior importador do salmão do Chile, atrás apenas dos Estados Unidos. O salmão importado do Chile é proveniente das pisciculturas implantadas na costa chilena e chega ao país em caminhões frigoríficos, na forma inteira e refrigerada (salmão fresco).

A filetagem é o processo industrial específico para a produção de filés de salmão fresco e é a etapa crítica para determinar o rendimento do processo. O peso do filé de salmão relacionado ao peso bruto do peixe pode variar de 66,37 % a 71,83 % (MARCOMAR, 2016) dependendo do tamanho da cabeça do peixe. O descarte das aparas gera um passivo ambiental, sanitário e econômico que poderia ser aproveitado para ampliar ganhos com a venda de produtos de maior valor agregado, investindo em marketing e promoção, inovação e ampliação do portfólio. Os investimentos no desenvolvimento de subprodutos, com preços mais acessíveis, podem estimular o consumo de produtos diferenciados como hambúrguer, salsicha, linguiça, almôndegas, *nuggets* e outros produtos processados de pescado, de fácil preparo.



Considerando isso, as indústrias processadoras de pescado têm mostrado interesse em empregar as aparas da filetagem na fabricação de formatados, embutidos e reestruturados de pescado. Um elemento chave para agregar valor às aparas e aumentar o consumo de peixe é desenvolver produtos de alto valor nutricional que satisfaça as expectativas sensoriais dos consumidores (NEIVA et al., 2011). A demanda por produtos prontos para consumo e/ou pronto para cozinhar estão crescendo gradualmente por causa da conveniência e, hambúrguer é um alimento simples e um meio econômico de converter subprodutos de pescado em produtos de maior valor agregado (YERLIKAYA, GOKOGLU, 2010).

Porém, há ainda alguns obstáculos tecnológicos no desenvolvimento e comercialização de pescados processados a partir de aparas da filetagem. Peixes gordurosos, como o salmão, contêm altas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), que terão sua susceptibilidade à oxidação aumentada na forma moída (*minced fish*), podendo acelerar os processos oxidativos que levam à deterioração do sabor, cor, textura e valor nutricional do pescado (AMENSOUR *et al.*, 2015; MIELNICK *et al.* 2006).

O uso de antioxidantes é eficaz na minimização ou prevenção da oxidação lipídica em produtos alimentares, retardando a formação de produtos tóxicos de oxidação, mantendo a qualidade nutricional e prolongando a vida útil dos alimentos (BOYD et al., 1993). Os antioxidantes sintéticos foram amplamente utilizados para retardar a oxidação lipídica nos alimentos, mas hoje em dia há um crescente interesse em encontrar antioxidantes naturais para uso em alimentos (BREWER, 2011). Tem havido um crescente interesse em identificar extratos de plantas, que minimizam a oxidação lipídica em produtos alimentares à base de lipídios; por exemplo, alguns compostos fenólicos naturais, que são eficazes na prevenção da rancidez em muitos sistemas lipídicos, como os músculos dos peixes (GAI et al., 2015).

O resíduo agroindustrial (casca e semente) da uva Isabel (*Vitis labrusca*) é uma fonte de fibras e de compostos fenólicos (antocianinas, catequinas e estilbenos como o resveratrol) com potencial antioxidante (TESENG & ZHAO, 2012). Durante a prensa da uva para a produção de sucos, estima-se que apenas 30% dos polifenóis são extraídos no suco, deixando a maior parte dos compostos bioativos no bagaço (PINELLO et al., 2005). Testamos a hipótese de que a farinha de bagaço de uva diminui o nível de oxidação lipídica do hambúrguer de salmão.

Portanto, há uma necessidade de se explorar outras formas mais econômicas de processamento do resíduo agroindustrial da uva, sem alterar o conteúdo de compostos ativos (antocianinas e compostos fenólicos) deste material, para viabilizar sua incorporação em

alimentos como corante e/ou como antioxidantes naturais em substituição aos aditivos sintéticos, ou ainda, como fonte de fibra alimentar.

Considerando estes pressupostos, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da adição de farinha de bagaço de uva (casca e semente), proveniente do processamento do resíduo da industrialização do suco de uva Isabel em diferentes concentrações, sobre a estabilidade oxidativa, propriedades físico-químicas e aceitação sensorial de hambúrguer de salmão congelado.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Salmão

O salmão é um peixe de grande porte, do filo Chordata, da família Salmonidae, que também engloba as trutas. O salmão é um peixe migrador anádromo: nascem em água doce, migram para o oceano, então retornam aos rios para se reproduzir. Embora várias dessas espécies sejam disponíveis tanto de fontes selvagens quanto cultivadas, cerca de 70% do salmão do Atlântico (*Salmo salar*) comercialmente disponível é cultivado (HARVEST, 2017).

O ciclo de produção de salmão é de cerca de três anos. Durante o primeiro ano de produção, os ovos são fertilizados e o peixe é cultivado até aproximadamente 100 gramas em um ambiente de água doce. O peixe é então transportado para gaiolas de água do mar onde cresce até cerca de 4-5 kg. Então o peixe é transportado para plantas de processamento onde é abatido e eviscerado. O transporte e a distribuição do salmão são realizados em caminhões frigoríficos dentro de caixas térmicas coberto com gelo em escamas (TABATA et al., 2011).

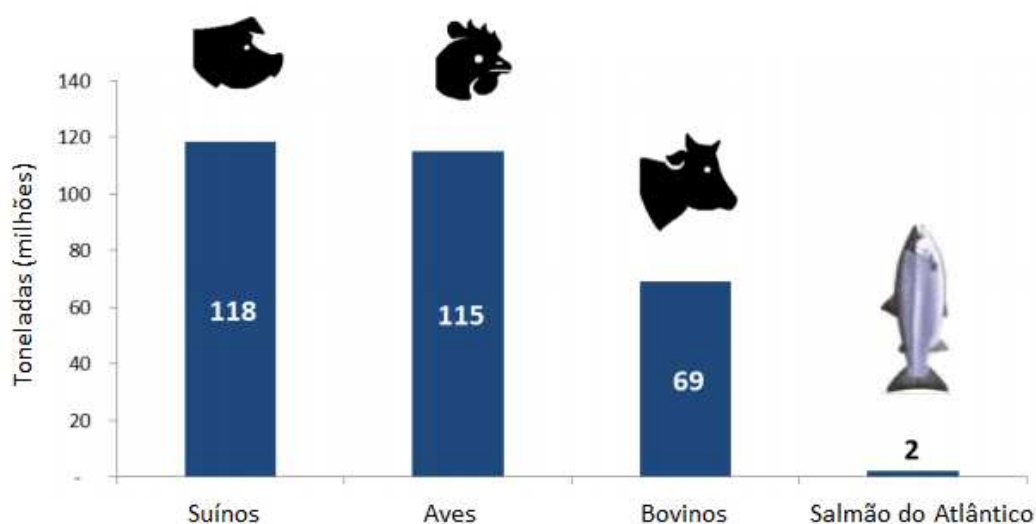
A Noruega, Chile, Escócia e Canadá são os principais produtores de salmão cultivado, sendo que das espécies de consumo o *Salmo salar* (salmão do Atlântico) é uma das mais importantes e economicamente relevantes, com produção global superior a 2 milhões de toneladas e rendimento de mais de 15 bilhões de dólares. Praticamente todo o salmão consumido no Brasil é importado do Chile. Em 2016, o volume adquirido no país foi de 71,85 mil toneladas, que rendeu à indústria do país 466,76 milhões de dólares (BRASIL, 2017). Os dados do governo brasileiro englobam as compras do peixe vivo, além do produto seco, congelado, salgado ou defumado.

A aquicultura foi responsável por um grande crescimento na oferta de pescado para consumo humano. O Banco Mundial projeta que a aquicultura continuará a preencher a lacuna oferta-demanda, e representará em 2030, aproximadamente 62% dos peixes consumidos. No entanto, estima-se que o pescado represente apenas 6% do consumo global de proteína (e cerca 16% do suprimento total de proteínas de origem animal). O maior consumo da proteína animal em nossas dietas provém de carne suína, aves e bovinos. HARVEST (2017) A Figura 1 apresenta o posicionamento do salmão como parte do suprimento de proteína animal global.

O salmão do Atlântico é um importante produto tanto do ponto de vista econômico como nutricional. O Brasil é o quinto maior mercado consumidor de salmão, ficando atrás apenas na União Europeia, Estados Unidos, Rússia e Japão. Sua cor, textura e sabor único, fizeram do salmão um dos pescados mais consumidos no Brasil (HARVEST, 2017). O

salmão do Atlântico é um alimento de excelente valor nutricional, fornecendo proteína de alta qualidade e uma ampla variedade de vitaminas e minerais, incluindo vitaminas A e D, fósforo, magnésio, selênio e iodo.

**Figura 1 - Consumo global de proteína animal**



Fonte: Salmon Farming Industry Handbook 2017.

O salmão é um peixe altamente perecível que contém alto nível de PUFA (ácidos gordurosos poliinsaturados), que têm muitos efeitos positivos na saúde humana, mas que são extremamente suscetíveis à oxidação. O salmão cultivado, importado do Chile, apresentou o maior teor de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) entre os 10 tipos diferentes de peixes habitualmente consumidos no Brasil (SCHERR et al., 2014).

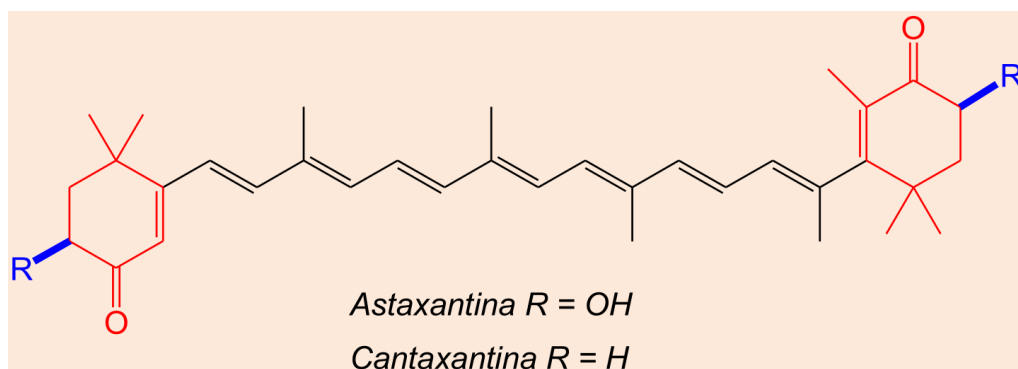
Os ácidos graxos poliinsaturados presentes em peixes marinhos e de água doce têm demonstrado ter vários benefícios para a saúde (RAATZ et al., 2011). Mas a natureza insaturada desses PUFA os torna altamente suscetíveis à oxidação, resultando odor indesejável e mudanças estruturais que não são atraentes para os consumidores. Peixes gordurosos, como o salmão, contêm altas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), que terão sua susceptibilidade à oxidação aumentada na forma moída (*minced fish*), podendo acelerar os processos oxidativos que levam à deterioração do sabor, cor, textura e valor nutricional do pescado (AMENSOUR et al., 2015; MIELNICK et al. 2006).

Na carne do salmão (*Salmo salar*) são encontrados carotenóides, ou seja, pigmentos naturais e solúveis em lipídeos. A tonalidade da cor depende dos teores de astaxantina (3,3'-dihidroxi- $\beta,\beta$ -caroteno-4,4'-dieno) e cantaxantina ( $\beta,\beta$ -caroteno-4,4'-dieno) (Figura 2) na carne, os quais são afetados pela composição alimentar e regimes de alimentação antes do

abate (NICKELL, SPRINGATE, 2001). O principal carotenóide presente no salmão selvagem, provenientes de águas geladas principalmente do Atlântico e do Pacífico, é a astaxantina responsável pela coloração vermelho-alaranjado. O pigmento responsável pela cor típica do salmão cultivado em cativeiro é a cantaxantina que tem sido amplamente utilizada nos cativeiros e, em alguns casos, representa 100% do pigmento do pescado (MARTINEZ et al., 2017).

Alguns experimentos apontam que para o salmão cru o valor de luminosidade ( $L^*$ ) é próximo de 45, valor da cor vermelha ( $a^*$ ) próximo de 11 e valor da cor amarela ( $b^*$ ) próximo de 15 unidades CIEL\*a\*b\* (OETTERER, 2006). Durante a estocagem, podem ocorrer reações químicas e enzimáticas que proporcionam odor e sabor desagradáveis. A deterioração de peixes, devido à rancidez e à desaminação oxidativa durante a estocagem, é percebida sensorialmente por mudanças na cor, odor e textura (DÍAZ et al., 2009).

**Figura 2 - Estrutura química da astaxantina e da cantaxantina**



Fonte: (FRASER; BRAMLEY, 2004)

O teor de gordura nos salmonídeos causa diluição dos pigmentos carotenóides e interfere na percepção da cor. A cor é consideravelmente mais pálida em regiões com elevado teor de gordura, tal como a aba do ventre em comparação com, por exemplo, tecidos musculares acima da linha lateral. Isso ocorre porque a gordura não é distribuída uniformemente ao longo do filé (OSTERMEYER, 2005).

O processamento e a estocagem podem provocar a isomerização dos pigmentos carotenóides e resultar no enfraquecimento gradual da cor do salmão. Sugere-se que a oxidação dos pigmentos seja causada por mecanismos de radicais livres. Os radicais livres provenientes da oxidação de ácidos graxos poliinsaturados, como o peróxido de hidrogênio,

podem ser responsáveis pela perda de cor dos carotenóides (SATHIVEL, 2005). Os radicais livres são os principais agentes pró-oxidantes da astaxantina e da cataxantinas. Paralelamente, os produtos finais da auto-oxidação lipídica, os aldeídos, podem interagir com os grupos amino das proteínas intensificando o escurecimento dos filés (HUTCHINGS, 1994). Na pigmentação do salmão do Atlântico cultivado em cativeiro, a cantaxantina vem sendo utilizada e, em alguns casos, 100% do pigmento alimentício provém dessa fonte. Os níveis de pigmento variam de um produtor para outro, dependendo dos regulamentos técnicos do mercado pretendido e dos regimes de alimentação projetados pelo produtor. Estes regimes de alimentação são concebidos para alcançar a cor típica com o menor custo possível sem incorrer em riscos de sub-pigmentação.

## **2.2 Filé de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*)**

### **2.2.1 Características Microbiológicas**

Os principais microrganismos de deterioração, implicados na diminuição da vida de prateleira em peixes frescos durante o armazenamento refrigerado aeróbico, consistem tipicamente de bactérias psicotrópicas Gram-negativas (GRAM & HUSS, 1996; PARLAPANI et al., 2015).

Em condições de armazenamento aeróbico, a deterioração bacteriana de filés de peixe refrigerados é devido principalmente a organismos psicrotróficos dominados por *Pseudomonas* e *Shewanella* spp. (LÓPEZ-GÁLVEZ et al., 2000). A composição da comunidade bacteriana do estômago, do ceco pilórico e do intestino de salmão do Atlântico cultivado foi avaliada pela extração do DNA diretamente do trato gastrointestinal e o sequenciamento de bandas revelou uma estreita diversidade de espécies, com predominância de *Pseudomonas*. A análise da cultura aeróbica revelou *Shewanella* spp como o isolado mais prevalente (NAVARRETE et al., 2009).

Meldrum et al. (2006) avaliaram a qualidade microbiológica de alimentos prontos para consumo (hambúrguer, patê peixe, frango assado), pela contagem de microrganismos mesófilos, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*. Esses autores observaram baixas contagens de microrganismos potencialmente patogênicos e concluíram que esses alimentos ofereciam baixo risco para a saúde do consumidor.

### 2.2.2 Características Químicas

O salmão do Atlântico fresco é caracterizado por ser um pescado de alta umidade em torno de 70%, alto teor de lipídeos de 11% e quase metade deste valor está na forma de ácidos graxos poliinsaturados, principalmente na forma de ômega-3, fonte de proteínas em torno 20% e cinzas cerca de 1% (OETTERER, 2006).

Possui proteínas de elevado valor biológico, contendo aminoácidos essenciais ao homem. Destaca-se ainda o teor de vitaminas lipossolúveis: A, D, E e K e conteúdo em vitaminas B6 e B12. Nos minerais destacam-se o fósforo, magnésio, selênio e iodo (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

O salmão é classificado como um peixe gordo, com teor de gordura variando de 7 a 12%, possuindo alto nível de PUFA's, principalmente os da família ômega-3, onde encontra-se os ácidos graxos ecosapentanóico (EPA) e docosahexenóico (DHA) (MARTIN et al., 2006). Estes compostos estão sendo cada vez mais estudados pelos benefícios à saúde na prevenção das doenças cardiovasculares (SIMÃO et al., 2007).

Dentre todos os ácidos graxos presentes no salmão do Atlântico, temos os essenciais ômega-3 e ômega-6 de grande importância na dieta humana, na prevenção contra várias doenças neurológicas, cardiovasculares, entre outros (AMENSOUR et al., 2015).

### 2.2.3 Oxidação lipídica

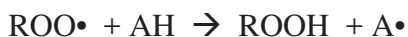
O congelamento pode retardar o crescimento de microrganismos, mas a oxidação lipídica ainda pode ocorrer, o que é uma grande preocupação de qualidade de produtos à base de pescado (QIU et al., 2016). Isso dificulta o processamento e limita a vida útil dos produtos à base de pescado (SPERANZA et al., 2009). Os ácidos graxos nos lipídios dos alimentos podem estar saturados ou insaturados e podem ser parte da fração de triglicerídeos neutros (triacilglicerol) ou parte da fração de fosfolípido. Ácidos graxos livres são deficientes em elétrons no átomo de oxigênio do grupo carbonila grupo ( $C=O$ ). Os ácidos graxos insaturados também são deficientes em elétrons em pontos de insaturação carbono-carbono ( $C=C$ ). Estas regiões deficientes em elétrons tornam os ácidos graxos susceptíveis de serem atacados por uma variedade de agentes oxidantes e de alta energia gerando radicais livres ( $R\bullet$ ,  $ROO\bullet$ ) (CHOE & MIN, 2006).

### 2.2.3.1. Antioxidantes

O uso de aditivos com propriedades antioxidantes (AH) tem sido a estratégia mais utilizada pelas indústrias de alimentos para controlar o processo de oxidação dos PUFA's. Antioxidantes fenólicos sintéticos BHA (2,3-terc-butil-4-hidroxianisol) e o BHT (2,6-diterc-butil-p-creso) e o propil galato são excelentes doadores de hidrogênio ou elétron que efetivamente inibem a oxidação (BREWER, 2011).

Entre os antioxidantes naturais, presentes em frutas e vegetais, destacam-se três grandes grupos: ácido ascórbico e fenólicos, como antioxidantes hidrofílicos, e carotenóides como antioxidantes lipofílicos. Algumas vitaminas (ácido ascórbico e alfa-tocoferol), ervas e temperos (alecrim, tomilho, orégano, sálvia, manjeriço, pimenta, cravo, canela e noz moscada) e extratos vegetais (chá verde e semente de uva) também têm sido largamente utilizados para retardar a oxidação lipídica em diversos produtos derivados de carne suína, bovina e aves (GARCÍA-LOMILLO; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, 2017).

Antioxidantes fenólicos naturais, assim como os sintéticos, podem efetivamente sequestrar radicais livres, absorver luz na região do ultravioleta (100 a 400 nm) e quelar metais de transição, e assim, retardar a autooxidação e a produção de odores e sabores indesejáveis em produtos cárneos (SASSE; COLINDRES; BREWER, 2009):



O efeito antioxidante dos compostos fenólicos é devido à formação de radicais livres mais estáveis ( $\text{A}\bullet$ ) que reduzem a velocidade da reação e o número de radicais livres reativos ( $\text{ROO}\bullet$ ), bem como a falta de posições adequadas na estrutura para ataque pelo oxigênio (HAMINIUK et al., 2012).

Os antioxidantes naturais têm sido mais largamente utilizados para prevenir a oxidação lipídica em diversos produtos derivados de carne suína, bovina e aves (GARCÍA-LOMILLO; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, 2017). Além da carne e dos produtos cárneos, extratos naturais ou pó foram efetivos na inibição da oxidação lipídica em diferentes espécies de pescado refrigerados, congelados e produtos processados, tais como hambúrgueres, almôndegas, *minced fish* e cortes marinados (VIJI et al., 2017) mais susceptíveis à oxidação e descoloração (Tabela 1).



**Tabela 1 - Antioxidantes naturais aplicados em diferentes espécies de pescado e produtos processados.**

Peixe/Produto	Espécie	Antioxidante natural	Referência bibliográfica
Carpa prateada	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	chá verde	FAN et al. (2008)
		casca de laranja e romã, e quitosana	ZAERI et al. (2012)
		cravo e semente de uva	SHI et al. (2014)
Carpa cruciana	<i>Carassius auratus</i>	chá verde, alecrim	LI et al. (2012)
Anchova	<i>Engraulis encrasicolus</i>	mirtilo, alecrim e urtiga	TURHAN et al. (2009)
Sardinha	<i>Sardina pilchardus</i>	alecrim, sálvia	KENAR et al. (2010); OZOGUL et al. (2011)
		folha de menta e artemísia	HOUCHIER et al. (2013)
Pompano	<i>Trachinotus ovatus</i>	alecrim, nisina	GAO et al. (2014)
Truta	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	açafrão, cebola	PEZESHK et al. (2011)
Cavalinha	<i>Restrelliger neglectus</i>	casca de laranja e folha de menta	VJI et al. (2015)
		coroa de deus, babosa	WINARNI et al. (2012)
Atum	<i>Thunnus thynnus</i>	tomilho	SELMİ & SADOK (2008)
		extrato de madeira (kiam wood)	MAQSOOD & BENIAKUL (2013)
Salmão	<i>Salmo salar</i>	uva (casca e/ou caroço), casca de pera	PEZESHK et al. (2011)
Almôndega	<i>Collichthys</i>	chá verde	YI et al. (2011)
Hamburguer	<i>Scomber scombrus</i>	alecrim	UCAK et al. (2011)
Pescado moído	<i>Trachurus trachurus</i>	casca de batata	FARVIN et al. (2012)

Fonte: Adaptado de VIJI et al. (2017).

Geralmente, o extrato é aplicado por tratamento de imersão para produtos armazenados refrigerados e congelados. Combinação de tratamento utilizando extrato de plantas associada à embalagem a vácuo ou a embalagem em atmosférica modificada também é comprovadamente um método eficaz de conservação para a extensão da vida útil de peixes frescos e produtos processados (UCAK et al., 2011; HOUCHIER et al., 2013).

### 2.3 Antocianinas

As antocianinas são compostos responsáveis pela pigmentação em vegetais, por uma grande variedade de cores observadas em flores, frutos, algumas folhas, caules e raízes de plantas, que podem variar do vermelho vivo ao violeta/azul (SOCACIU, 2008).

Na natureza, as antocianinas apresentam nas folhas e frutas a função de atrair agentes polinizadores e dispersores de sementes, e proteger diversos tecidos da planta de processos oxidativos durante o ciclo de vida, principalmente nas fases iniciais de crescimento (EIBOND et al., 2004).

Quimicamente, são compostos fenólicos pertencentes ao grupo dos flavonóides, pigmentos naturais amplamente distribuídos no reino vegetal. São facilmente obtidos por extração a frio com metanol ou etanol fracamente acidificado (MARJA et al., 2003).

A antocianidina é a estrutura básica das antocianinas, mas quando ligadas a um açúcar, são conhecidas como antocianinas. As principais antocianinas encontradas em alimentos são as antocianidinas (agliconas): pelargonidina (morango, amora), cianidina (jabuticaba), delphinidina (berinjela), malvidina (uvas), peonidina (cereja) (BOBBIO; BOBBIO, 2001). A diferença entre as antocianinas está relacionada ao número de hidroxilas, natureza, número e posição de açúcares ligados a matriz e quantidade de ácidos alifáticos ou aromáticos ligados a esses açúcares (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009).

Naturalmente a coloração das antocianinas pode variar pela substituição dos grupos hidroxila e metoxila na molécula. Aumentando o número de hidroxilas tendem a coloração azulada e ao contrário, com o aumento no número de grupos metoxilas intensifica o vermelho (DELGADO-VARGAS; JIMÉNEZ; PAREDES-LÓPEZ, 2000).

As antocianinas podem apresentar em diferentes estruturas, dependendo do pH do meio que se encontra afetando a cor e a estabilidade química consequentemente mudanças na coloração desses pigmentos. Podendo ocorrer em equilíbrio quatro estruturas químicas principais: cátion flavilium, de cor vermelha, carbinol, incolor, forma chalcona, de cor amarela e quinoidal, azul. À medida que o pH aumenta, ocorre perda de próton do cátion flavilium, gerando estrutura quinoidal. Ao mesmo tempo, uma hidratação do cátion flavilium leva a formação carbinol, no qual leva a formação das formas chalconas (Figura 3) (CASTANEDA-OVANDO et al., 2009).

A estabilidade da cor das antocianinas é maior sob condições ácidas, mas pode ocorrer degradação por vários mecanismos, dependente da estrutura e concentração dos pigmentos, além dos fatores como o pH, a temperatura, enzimas, ácido ascórbico, dióxido de enxofre, íons metálicos e a presença de oxigênio (LEVI et al., 2004). A alteração da cor das antocianinas com a variação de pH concluem que na região alcalina são mais significativas devido a sua instabilidade (CABRITA, FOSSEN & ANDERSEN, 2000).

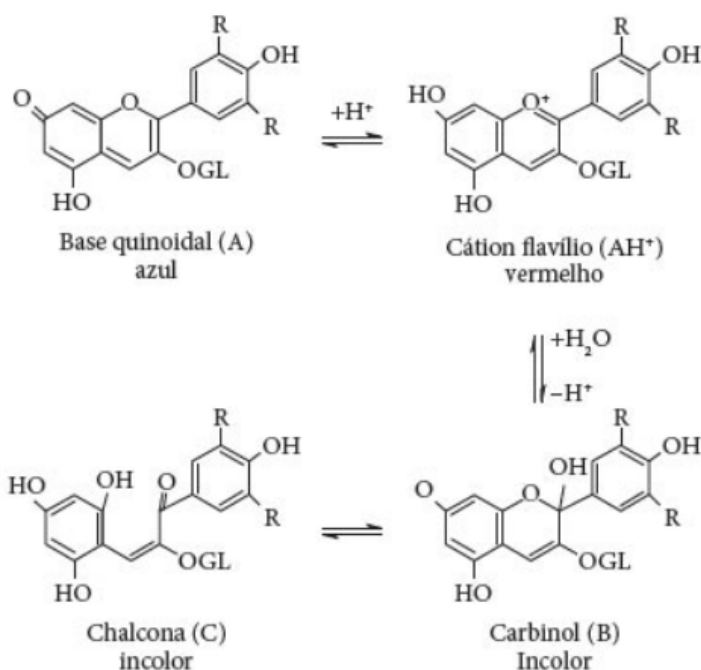
Estudos realizados com a estabilidade das antocianinas com o pH foi descrita por YOSHIDA, MACIEL, MENDONÇA e FRANCO (2014), onde desenvolveram um protótipo de um indicador de temperatura colorimétrico para monitoramento da qualidade de alimentos utilizando suspensões de quitosana contendo antocianina em folhas de papel cartão.

Evidências também indicam que as antocianinas possuem propriedades anti-inflamatórias, como observado nos estudos *in vitro* e *in vivo* (ROSSI et al., 2003), que podem reduzir o risco de doenças envolvendo estresse oxidativo e inflamação, incluindo doença cardiovascular, diabetes, certos tipos de cânceres e osteoporose (STEFANUT et al., 2013).

A cor vermelho-arroxeadada distinta do suco de cereja ácida é devido ao seu conteúdo de antocianinas (BLANDO et al., 2004). O teor de antocianinas nos estudos de suco de cereja (*Prunus cerasus* L.) variou entre 350,0 a 633,5mg/L e a capacidade antioxidante de 20,0-37,9  $\mu\text{M/L}$  na TEAC (DAMAR et al, 2012).

**Figura 3 - Mudanças de estruturas das antocianinas em função do pH do meio.**

Onde: R' = grupo glicosil; R'' geralmente um H ou açúcar; R1 e R2= H, OH ou OCH<sub>3</sub>.



Fonte: adaptado de CASTAÑEDA-OVANDO et al. (2009)

Segundo HASSIMOTTO et al. (2008) a atividade antioxidante está relacionada à concentração de compostos bioativos presentes, principalmente com o teor de antocianinas. A capacidade antioxidante de frutas, legumes, e chá são altamente correlacionados com o teor de fenólicos, o que sugere que os polifenóis são os principais contribuintes para o potencial antioxidante (MARJA et al., 2003, MOYER et al., 2006).

VRHOVSEK et al. (2012) observaram alta atividade antioxidante do mirtilo, correlacionada com as antocianinas e outros compostos fenólicos e pode ser considerado como um das mais altas fontes antioxidantes entre frutas e vegetais. Os valores médios encontrados no mirtilo *in natura* para atividade antioxidante foram 29,20  $\mu\text{M TEAC/g}$  de frutos pelo método ABTS. Valores maiores ou próximos aos encontrados na maioria das

frutas (como açaí, caju, morango, maracujá e manga) estudados por VASCO et al. (2008) e RUFINO et al. (2010), usando o mesmo método.

Alguns estudos sugeriram que o teor de antocianinas e sua capacidade antioxidante podem interferir direta e indiretamente em muitos sistemas geradores de radicais livres, pois, com seus grupos hidroxílicos reativos, sequestram radicais livres, sendo oxidados a um radical mais estável e menos reativo (RECORD, DREOSTI, MCLNERNEY, 2001).

A capacidade antioxidante das farinhas de subproduto do pequi de 986,94 a 1154,42  $\mu$ M Trolox/g e 44,43 a 48,02 de DPPH (LEÃO et al., 2017).

A antocianina mais comum em variedades de uvas é a malvidina-3-O-glicosídeo (KENNEDY et al., 2006). YU & AHMEDNA (2013) descreveram o potencial do bagaço de uva para serem usados como conservantes na oxidação lipídica e antibacteriana. Suprimem o crescimento de algumas cepas bacterianas, como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* e *Escherichia coli*.

## 2.4 Bagaço de uva

Sabe-se que a uva é uma das frutas mais cultivadas no mundo. No Brasil, 90% da produção de uvas acontece no Rio Grande do Sul, sendo que em 2014, 673 milhões de quilos de uva, o equivalente a 47% da produção do país, foi destinado ao processamento para produção de vinho, suco e derivados (MELLO, 2014). O bagaço de uva corresponde a 20% da fruta processada, o descarte deste subproduto como resíduo é um fator de poluição ambiental (BUSTAMANTE et al., 2007; BUSTAMANTE et al., 2008). Portanto, além do uso do bagaço de uva ser um meio de aproveitar as propriedades funcionais e nutricionais, também pode viabilizar a sustentabilidade da viticultura para o meio ambiente. Estima-se que o processamento de uva gere o equivalente a 210 mil toneladas de bagaço por ano, o equivalente a 16% de toda a uva processada. O descarte desse resíduo gera um grande passivo ambiental que poderia ser aproveitado por outras cadeias produtivas, como as indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética (BASTOS, 2014). Tanto a casca quanto a semente do bagaço da uva possuem alta concentração de polifenóis e fibra alimentar, tem potencial de aplicação como ingrediente para fabricação de alimentos funcionais. As antocianinas são substâncias biologicamente ativas que apresentam, por exemplo, atividade antiinflamatória, atividade anticonvulsivante e atividade antioxidante (LARRAURI; RUPÉREZ; SAURA-CALIXTO, 1997).

ROCHENBACH et al. (2011) investigaram o bagaço da vinificação produzidos no Brasil, visando a exploração como fonte potencial de antioxidantes naturais. Foram encontrados teores de compostos fenólicos do bagaço de uva Carbenet (74,75mg GAE/g), e atividade antioxidante pelo método ABTS de 484,42 e 505,52  $\mu$ M Trolox(TEAC) /g. KARNOPP et al. (2017) caracterizaram farinha de bagaço de uva produzidos a partir do processamento de suco de *Vitis labrusca* em relação à composição físico-química, conteúdo de compostos bioativos e capacidades antioxidantes/redutoras e também obtiveram resultados promissores para a aplicação em alimentos. Estudos descritos por GAI et al. (2015) sobre efeitos do extrato de bagaço de uva vermelha na estabilidade oxidativa e como bioativo funcional em alimentos à base de pescado sugeriram melhorar a vida útil deste alimento, além de melhorar o perfil nutricional com o aumento de antioxidantes naturais benéficos ao organismo. Esses autores relataram que (+) catequina e (-) epicatequina foram os principais polifenóis detectados no músculo de truta moída enriquecida com bagaço de uva.

Durante a prensa da uva para a produção de vinho e sucos, estima-se que apenas 30% dos polifenóis são extraídos no suco, deixando a maior parte dos compostos bioativos no bagaço (PINELO et al., 2005). Além do alto teor de compostos fenólicos, o bagaço de uva também é uma importante fonte de fibra alimentar (TSENG, ZHAO, 2012).

## 2.5 Fibras Alimentares e Aveia

As fibras alimentares são definidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), como “qualquer material comestível que não seja hidrolisado pelas enzimas endógenas do trato digestivo humano e determinado segundo os métodos da AOAC” (BRASIL, 2003). O termo fibra alimentar inclui polissacarídeos, oligossacarídeos, lignina e substâncias associadas à planta (PROSKY, 1999). As fibras alimentares promovem efeitos benéficos ao corpo humano e a ingestão diária necessária para uma dieta saudável. Por esta razão, alguns autores defendem a definição de fibra alimentar baseada nos critérios fisiológicos (CHAMP et al., 2003).

O termo fibra alimentar solúvel e insolúvel sugere uma classificação simples quanto as suas diferentes propriedades fisiológicas. As fibras alimentares solúveis (pectinas,  $\beta$ -glicanos, gomas, mucilagens, hemiceluloses solúveis) conferem ações no retardo de absorção de glicose, diminuição dos níveis de colesterol, redução do esvaziamento gástrico. As fibras alimentares insolúveis (lignina, celulose e hemicelulose) estimulam o bom funcionamento intestinal, aumento do bolo fecal e prevenção de constipação intestinal (GRAY, 2006).

A aveia tem recebido destaque no desenvolvimento de novos alimentos, devido ao seu teor e qualidade das fibras alimentares, sendo considerada alimento funcional (BARRETO et al., 2007). Os componentes mais importantes da fibra alimentar são as  $\beta$ -glucanas localizadas nas paredes celulares dos grãos (DONGOWSKI, 2005).

A digestão gastrointestinal simulada da farinha de uva mostrou que a fração de fibra insolúvel, não digerida e nem absorvida no intestino delgado, compreende não apenas a fibra alimentar, mas também outros compostos resistentes às enzimas digestivas, como as proteínas resistentes e taninos condensados (GOUW et al., 2017).

### **2.5.1 Fibras alimentares em produtos cárneos**

Na pirâmide alimentar, as carnes são classificadas como proteínas, juntamente com os ovos. A carne é o alimento com a maior fonte de proteínas, oferecendo também quantidade de aminoácidos, ácidos graxos essenciais e vitaminas do complexo B, além de uma quantidade significativa de ferro, zinco e fósforo (ARIHARA, 2006). Pesquisas sugerem uma relação direta entre a dieta e o desenvolvimento de doenças crônicas não degenerativas, incluindo câncer de cólon, obesidade e doenças cardiovasculares.

A crescente demanda dos consumidores por produtos mais saudáveis estimulam o desenvolvimento de produtos cárneos com redução de gordura, ácidos graxos saturados, sal e nitrito como uma das possíveis abordagens para melhorar a imagem negativa da carne e incrementar o desenvolvimento de produtos cárneos com propriedades funcionais (OSPINA-ECHEVERRI et al., 2012). Outra alternativa promissora é a incorporação de ingredientes funcionais como fibras, proteínas vegetais, antioxidantes naturais, ácidos graxos poliinsaturados, entre outros (ARIHARA, 2006). A reformulação de produtos cárneos através da adição de fibras alimentares pode ser considerada uma nova fronteira de crescimento para a indústria de carnes, face à urgência de oferecer ao consumidor razões saudáveis para o seu consumo, principalmente para a população brasileira, na qual a ingestão de fibras é considerada inferiormente inadequada segundo as recomendações nutricionais que sugerem ingestão adequada em torno de 14 g de fibra por 1000 Kcal ingerida (SARMENTO et al. 2013).

As fibras alimentares de cereais, frutas e subprodutos agroindustriais estão sendo utilizadas na reformulação de vários produtos cárneos, como linguiças, hambúrgueres, mortadelas, almôndegas e salsichas, entre outros. As fibras alimentares adicionadas em produtos cárneos podem aumentar a capacidade de retenção de água (GARCIA, 2005), bem

como permitir a alegação de diferentes propriedades funcionais, tais como: fontes de fibras, baixo teor de gordura, promovendo a diminuição da adição de nitritos e nitratos (ALAKALI; IRTWANGE; MZER, 2010).

Estudos realizados por Steenblock et al. (2001), produtos cárneos utilizando fibras de aveia, possuem percepção positiva frente aos consumidores nas características de qualidade de mortadela *light*.

Muitas características da fibra de aveia, como a alta capacidade de absorção de água e como agente ligante, sugere potencial a beneficiar reformulações de produtos como hambúrguer, linguças, mortadelas (GARCIA et al., 2002).

As fibras alimentares comumente usadas como ingredientes em produtos à base de pescados são geralmente solúveis e provenientes principalmente de algas, como carragena (Borderías, Montero e Mati de Castro, 1996; Gómez-Guillén, Solas, Borderías, & Montero, 1996) e de sementes como alfarroba, guar, inulin e outros (Cardoso, Mendes, Pedro e Nunes, 2008; Pérez-Mateos, Hurtado, Montero e Fernández-Martín, 2001; Sánchez-Alonso, Borderías, Larsson, & Undeland, 2007).

Outro tipo de fibra alimentar que é particularmente adequada para adição em produtos à base de pescado são as chamadas fibras alimentares antioxidantes, como o resíduo agroindustrial da uva (cascas e sementes) (Sánchez-Alonso, Borderías, Larsson, & Undeland, 2007). A indústria de uvas tem sido líder na utilização de resíduos para aumentar a receita da indústria com produtos como extrato de semente de uva, extratos de pigmentos, além do bagaço seco (PEREIRA, 2015).

A secagem é um passo essencial no processamento de resíduos agroindustriais, susceptíveis à degradação microbiológica e às alterações químicas e bioquímicas que decorrem do alto teor de umidade desses sub-produtos (LARRAURI; RUPÉREZ; SAURA-CALIXTO, 1997). Na maioria dos trabalhos encontrados na literatura, o bagaço de uva é proveniente de cascas e sementes obtidas por liofilização, que é um procedimento de alto custo em escala industrial. Por outro lado, a secagem por convecção é a técnica mais econômica e amplamente adotada na indústria alimentícia, apesar de requerer longos tempos de secagem e temperaturas mais altas (BUSTOS et al., 2018).

A Tabela 2 mostra algumas fibras alimentares utilizadas em produtos cárneos com as respectivas alegações de propriedades funcionais. Esses trabalhos demonstram que o resíduo agroindustrial da uva apresenta grande potencial como ingrediente funcional para aplicação em alimentos.

**Tabela 2 - Aplicação de resíduos agroindustriais em produtos cárneos.**

Fonte de fibra	% fibra	Método de secagem/ Umidade final (%)	Alimento	% de fibra (ou da fonte) incorporada no alimento	Tempo de estocagem	Temperatura	Efeito bioativo	Referência
Resíduo de goiaba( <i>Psidium guajara</i> L)	43,21%	Estufa a 55°C 6,41%	Nuggets carne de ovelha	0,50% 1%	15d	4°C	Antioxidante Fonte de fibra	VERMA et al. 2013
Resíduo de Uva branca( <i>Vitis lab</i> )	76,26%	Liofilização	Pescado moido	2% 4%	180d	20°C -	Antioxidante Fonte de fibra	SÁNCHEZ-ALONSO et al.2007b
Farinha Resíduo de uva	47,56%	Extração do óleo	Salsichas	0,5%;1%;2%; 3%;4% e 5%	90d	4°C	Antioxidante Fonte de fibra	OZVURAL et al.2011
Resíduo de Uva ( <i>Vitis vinifera</i> L)	40,26%	Estufa 60°C	Salame tipo Milano	1%;2%;3%	28d	25°C	Antioxidante Fonte de fibra	MENDES et al. 2014
Resíduo uva ( <i>Vitis vinifera</i> L)	77,60%	Estufa	Hambúrguer de frango	0,5%;1%;1,5% 2%	13d	4°C	Antioxidante Fonte de fibra	SAYAGO-AYERDI et el.2009
Farelo de arroz	37,70%	10,70%	Almôndegas carne bovina	5%;10%;15%; 20%	10d	4°C	Fonte de fibra	YILMAZ et al. 2004
Película de avelã	59,19%	Torrefação 9,99%	Hambúrguer de carne bovina	1%; 2%	10d	4°C	Fonte de fibra Baixo teor de gordura	TURHAN et al. 2005
Albedo de limão	22% a30%	In natura cru e cozido 65,70 e 72,03%	Linguiça	2,5%;5%;7,5%; 10%	n.d	4°C	Fonte de fibra Diminuição nível de nitrito	FERNÁNDEZ-GINÉS et al. 2004
Fibra de laranja	80%	Estufa 50°C 7,00%	Linguiça cozidas e curadas	1% e 2%	28d	14-16°C	Antioxidante Diminuição nível de nitrito	FERNÁNDEZ-LOPES et al. 2008
Fibra de trigo,aveia inulina	94%,93%	n.d	Mortadela	5%;5% e 10% respectivamente	45d	Ambiente	Fonte de fibra Baixo gordura	BARRETO et al. 2007
Albedo de limão, trigo e aveia	47%	In natura (albedo limão)	Linguiça frescal	7%	n.d	4°C	Antioxidante Fonte de fibra	ALESSON-CARBOLELL et al. 2005b
Casca de batata	58%	Liofilização 6-8,5%	Hambúrguer de carne suína	8%	n.d	22°C cozido	Fonte de fibra	KAACK et al. 2006
Resíduo de uva Isabel( <i>Vitis lab</i> )	17%	Liofilização	Linguiça frescal frango	0,2 e 0,4%	8d	4°C	Antioxidante Fonte de fibra	CASAGRANDE, M. 2014
Resíduo de uva bordô ( <i>Vitis lab</i> )	44,14%	Spray dryer	patê de frango	0,30%	41d	4°C	Antioxidante Fonte de fibra	PEREIRA, D. 2015



### 3 OBJETIVO GERAL

O objetivo desse trabalho foi avaliar a estabilidade oxidativa de hambúrguer de salmão enriquecido com fibra de bagaço de uva Isabel e aveia, durante estocagem a  $-18^{\circ}\text{C}$ .

#### 3.1 Objetivos específicos

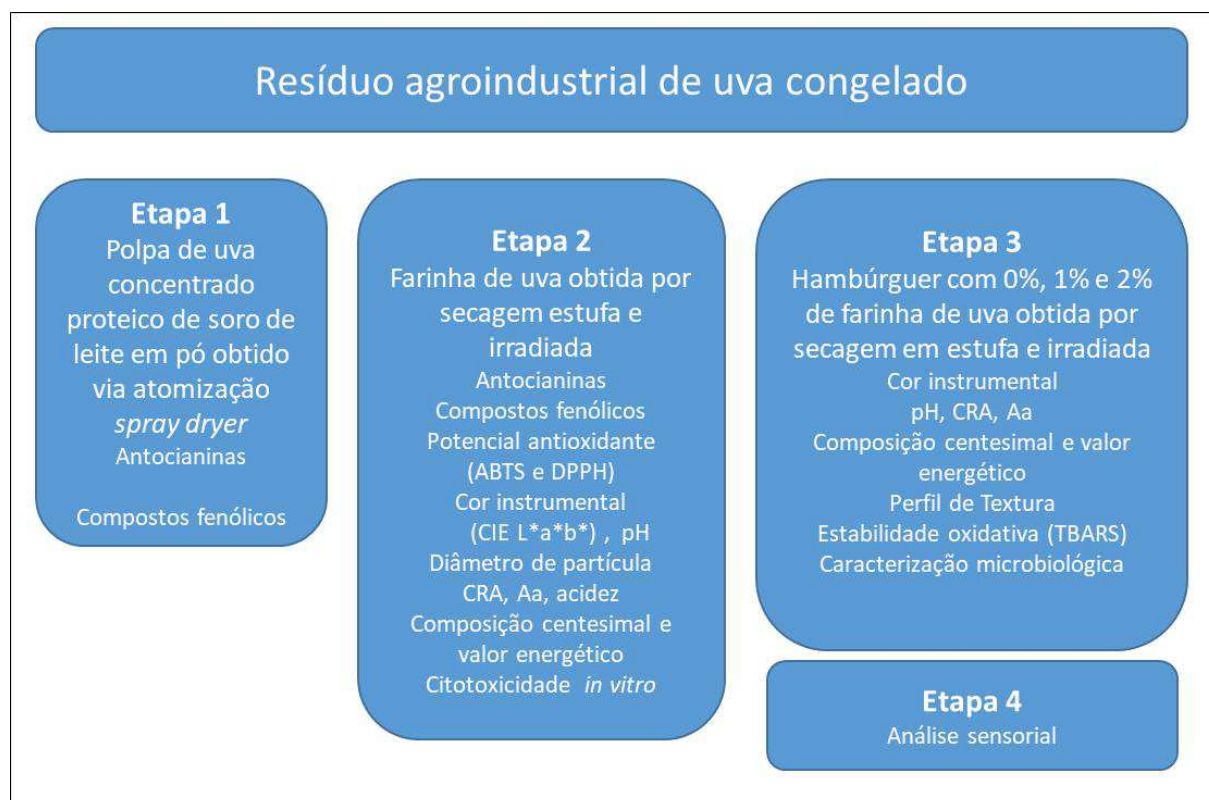
- Otimizar as condições operacionais para o processo de atomização do bagaço de uva;
- Determinar a concentração de antocianinas e compostos fenólicos totais no pó obtido por *spray dryer* e na farinha em estufa com circulação de ar a  $40^{\circ}\text{C}$ ;
- Avaliar o potencial antioxidante do resíduo seco do bagaço de uva;
- Avaliar as características físico-químicas, composição centesimal e o perfil de textura dos hambúrgueres enriquecido com fibra, utilizando farinha do bagaço da uva e aveia;
- Avaliar a estabilidade oxidativa do hambúrguer durante armazenamento  $-18^{\circ}\text{C}$  por seis meses;
- Avaliar a aceitação sensorial e a intenção de compra dos hambúrgueres;

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

O resíduo (casca e semente) da industrialização do suco de uva Isabel (*Vitis labrusca*) utilizado nesse trabalho foi cedido pela empresa de produtos alimentícios Superbom Indústria e Comércio Ltda. Concentrado proteico de soro de leite (Lacprodan80, Arla Foods Ingredients). Filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) fornecidos pela Marcomar Comércio de Alimentos.

O fluxograma (Figura 4) resume as análises realizadas no bagaço da uva desidratado, obtido por atomização (Etapa 1) ou por secagem em estufa com circulação de ar (Etapa 2), bem como as análises realizadas no hambúrguer de salmão incorporado com farinha de bagaço de uva (Etapas 3 e 4).

**Figura 4 - Fluxograma de análises**



## **4.1 Etapa 1: Pó de uva obtido por atomização**

### **4.1.1 Obtenção e preparação da polpa de casca de uva**

Após o descongelamento de 24h sob refrigeração (4 °C) do resíduo de bagaço de uva, as cascas foram separadas manualmente dos caroços de uva, e foram homogeneizadas com água potável em uma proporção em massa de 1:4, e a polpa formada foi filtrada em tecido para a eliminação de potenciais resíduos sólidos. Antes da microencapsulação das antocianinas em *spray dryer* o adjuvante concentrado proteico de soro de leite foi adicionado à polpa de casca de uva nas porcentagens de 10,0, 12,5 e 15,0% (em massa). A concentração de sólidos (Cs) foi determinada a partir da secagem de amostras de 3g em estufa com circulação forçada (Tecnal, Modelo TE394/2, Brasil) a  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  até peso constante, em triplicata.

### **4.1.2 Secagem da polpa da casca de uva em *spray dryer***

A secagem por atomização foi realizada em secador *spray dryer* em escala de laboratório LM MSD 1.0 (Labmaq, Brasil), com capacidade de evaporação de 1 L de H<sub>2</sub>O/h, vazão volumétrica do ar de 1 m<sup>3</sup>/min (25 °C), sistema concorrente de ar, bico atomizador de 0,7 mm. O *spray dryer* é composto por uma câmara de secagem, tubo coletor e um ciclone Lapple. A pasta a ser seca foi mantida sob agitação por um agitador magnético e transportada por meio de uma bomba peristáltica até o bico atomizador de duplo fluido; ar de atomização foi alimentado ao sistema por meio de uma linha de ar comprimido. O ar de secagem entra descendentemente pela câmara de secagem e é retirado por um filtro de manga, um termopar mede a temperatura de entrada de ar. O equipamento foi operado através do painel de controle. As condições operacionais otimizadas foram determinadas a partir do estudo do processo, em termos de qualidade do produto. O processo de obtenção do pó do resíduo de uva foi analisado a partir do estudo das variáveis operacionais (temperatura do ar de entrada, vazão de alimentação da pasta e concentração mássica de agente carreador), em termos de concentração e retenção de antocianinas. Para tanto os experimentos foram apresentados na matriz de planejamento com ponto central (2<sup>3</sup>), Tabela 3.

**Tabela 3 – Matriz do Planejamento Experimental com variáveis independentes: temperatura do ar de entrada ( $T_e$ ), vazão de alimentação da pasta ( $W_f$ ) e concentração mássica de agente carreador ( $C_A$ ).**

Ensaio	$T_e(^{\circ}\text{C})$	$W_f$ (g/min)	$C_A$ (%)
1	160	10	15
2	160	10	10
3	160	5	15
4	160	5	10
5	190	10	15
6	190	10	10
7	190	5	15
8	190	5	10
9	175	7,5	12,5
10	175	7,5	12,5
11	175	7,5	12,5

#### 4.2 Etapa 2: Secagem do bagaço de uva (casca e semente) em estufa com circulação de ar

O resíduo da indústria de sucos de uva também foi seco em estufa de circulação de ar por 72 h (Tecnal, Modelo TE394/2, Brasil) a  $40^{\circ}\text{C}$  e posteriormente moído em moinho analítico (Analytical Mill A10, Kinemática GAC, Luzern, Switzerland). A granulometria foi uniformizada com peneiras de 0,250 mm (mesh 60). A farinha obtida foi irradiada com radiação gama, fonte cobalto-60, 25 kGy em irradiador (Multipropósito, compacto, Brasil) no Centro de Tecnologia das Radiações do Instituto de Pesquisas Energéticas e nucleares (CTR, IPEN-CNEN/SP), com o objetivo de eliminar a microbiota natural.

#### 4.3 – Etapa 3: Processamento e Formulação do hambúrguer contendo farinha de uva

Para este estudo foram utilizados filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*). Segundo informações da empresa Marcomar, os peixes foram criados em cativeiro, e durante o primeiro ano de vida foram criados em tanques de água doce e posteriormente passaram a

ser criados em cativeiros de água salgada do mar, em redes de 20 x 20 metros. Os peixes foram abatidos quando atingiram o peso ideal para abate ( $\pm 5$  kg). O abate foi realizado seguindo o procedimento de insensibilização do peixe em água gelada, ou seja, condição em que o peixe entra em hipotermia e então foi realizado a sangria através de um corte feito na guelra. Feito o abate, os peixes foram eviscerados, previamente limpos e então embalados em caixa térmica de isopor com gelo em camadas e transportados do Chile até o Brasil em caminhão frigorífico com temperaturas entre  $-13$  a  $-10^{\circ}\text{C}$ . A filetagem e o transporte dos filés congelados para o Laboratório de Biotecnologia e Produtos Naturais da UNIFESP-Campus Diadema foi realizada pela empresa importadora, Marcomar Comércio de Alimentos Ltda, no mesmo dia em que os peixes chegaram no Centro de Distribuição. Os 6 filés pesando aproximadamente 8,7 Kg foram descongelados sob temperatura controlada entre  $0-2^{\circ}\text{C}$  durante o procedimento de moagem para evitar alterações de qualidade, conforme preconiza o Regulamento Técnico para Peixe Fresco (BRASIL, 1997; NEIVA, 2008). Os filés foram moídos no moedor de carne (Siemens, PCP-22LR-N) utilizando discos de 8 mm e misturados com os demais ingredientes. Após a mistura os hambúrgueres contendo aproximadamente 30 g, foram formatados manualmente, com o auxílio de um molde cilíndrico com 6 cm de diâmetro e 2 cm de altura, embalados individualmente em filmes de polietileno e congelados a  $-18^{\circ}\text{C}$  em freezer (GE, Frost free 410) para as avaliações experimentais. Quatro tratamentos foram realizados para a obtenção de hambúrguer de salmão (Tabela 4), um controle (sem adição de antioxidante), adição de 0,01% (em massa) de BHT e 1 e 2% (em massa) de farinha de bagaço de uva (FBU), conforme Tabela 4.

**Tabela 4 - Formulação dos hambúrgueres de salmão.**

Formulação do hambúrguer	%	massa em gramas			
		Controle	BHT	FBU 1%	FBU 2%
Filé de salmão moído	100	2100	2100	2100	2100
Farinha de Aveia	10	210	210	210	210
Farinha de Uva	0, 1 ou 2	0	0	21	42
Sal	1,3	27,3	27,3	27,3	27,3
Glutamato Monossódico	0,3	6,3	6,3	6,3	6,3
Cebola em pó	0,2	4,2	4,2	4,2	4,2
Pimenta Branca	0,1	2,1	2,1	2,1	2,1
Alho desidratado	0,02	0,42	0,42	0,42	0,42
BHT	0,01	0	0,21	0	0

O hambúrguer congelado foi assado em forno tradicional (Bosch, Style grill inox) na temperatura de  $160^{\circ}\text{C}$ , colocados em forma de alumínio, durante 20 minutos, até atingir a temperatura de  $76^{\circ}\text{C}$  no centro geométrico do produto (BRASIL, 2013).

As análises de perfil de textura e aceitação sensorial foram feitas logo após assados. Para as análises microbiológicas e CRA utilizaram-se amostras de hambúrgueres crus. Utilizaram-se hambúrgueres crus e assados para composição centesimal, cor instrumental, pH e atividade de água (Aa). Para a análise de oxidação lipídica, utilizou-se os hambúrgueres crus e assados nos tempos de armazenamento 0, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias.

#### 4.4 Análises Físico-químicas, Microbiológicas e Sensoriais

##### 4.4.1 Determinação da concentração e retenção de antocianinas

A concentração de antocianinas totais ( $C_{ant}$ ) foi determinada pelo método de espectrofotometria diferencial de pH desenvolvido para sucos de frutas, bebidas, corantes naturais e vinhos descrito por LEE *et al.* (2005). A extração das antocianinas do pó, da pasta e farinha foi realizada baseando-se no método descrito por FULEKI & FRANCIS (1968) e adaptado. A amostra (1 g) foi misturada com 20 mL de etanol:ácido clorídrico 1,5 M (85:15, em volume); armazenagem (24h, 4 °C, ausência de luz) e filtrada a vácuo em papel Whatman nº 1, lavagem da torta e papel filtro com solução extratora para remoção das antocianinas, disposição do filtrado em balão volumétrico de 100mL. Uma alíquota de 1 mL das amostras foram dissolvidas em 0,025 M de solução tampão de cloridrato de potássio (pH= 1,0) e em 0,4 M de solução de acetato de sódio (pH=4,5), com o fator de diluição pré determinado em 10 ou 5, de acordo com a coloração da amostra. A leitura da absorbância foi realizada em 510 nm, considerando a absorbância máxima para cianidina-3-glicosídeo e em 700 nm para descontar a turbidez da amostra. As leituras de absorbância (A) foram realizadas em espectrofotômetro (Evolution 60s, Thermo Scientific, China) e calculadas, usando-se a Equação 2:

$$A = [(A_{510} - A_{700})_{pH\ 1,0}] - [(A_{510} - A_{700})_{pH\ 4,5}] \quad (2)$$

A concentração de antocianinas totais ( $C_{ant}$ ) em  $mg\ L^{-1}$  foi calculada como cianidina-3-glicosídeo a partir da Equação 3:

A concentração de antocianinas totais ( $C_{ant}$ ) em  $mg\ L^{-1}$  foi calculada como cianidina-3-glicosídeo a partir da Equação 3:

$$C_{ant}(\frac{mg}{L}) = \frac{A \times PM \times FD \times 10^3}{\epsilon \times l} \quad (3)$$

onde MM = massa molecular = 449,2 g.mol<sup>-1</sup> para cianidina-3-glicosídeo; FD = fator de diluição;  $\epsilon$  = absortividade molar = 26900 mol.L<sup>-1</sup>; l = espessura da cubeta em cm e 10<sup>3</sup> = fator para conversão de g para mg.

A retenção das antocianinas ( $R_{ant}$ ) foi avaliada a partir da concentração destes flavonóides antes e após o processo de atomização, e o teor de antocianinas foi expresso em (mg/100g de pó seco).

#### **4.5 Determinação do potencial antioxidante da farinha de uva**

##### **4.5.1 Extração etanólica dos compostos fenólicos do pó obtido por *spray dryer* e da farinha de uva obtida por secagem em estufa.**

Inicialmente pesou-se 20 g do pó e da farinha, em triplica, e a extração foi conduzida utilizando 100 mL de solução etanólica (80:20 v/v), sob agitação a temperatura ambiente por 48 h. Em seguida, o material foi submetido a filtração em papel Whattman qualitativo de 12,5 mm. O extrato foi armazenado sob refrigeração (4 a 8°C), em frasco âmbar, até a realização das análises para a determinação de compostos fenólicos totais e potencial antioxidante (ABTS e DPPH).

##### **4.5.2 Determinação de compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos totais do pó e da farinha obtidos por secagem por *spray dryer* ou em estufa a 40°C respectivamente, foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu, citado por SINGLETON, ORTHOFER, AND LAMUELA-RAVENTOS (1999), com algumas modificações. Em resumo, 100  $\mu$ L do extrato etanólico do pó e da farinha foram misturados com 500  $\mu$ L de reagente Folin-Ciocalteu (Cromoline) e 6mL de água destilada. Em seguida, adicionados 2mL de carbonato de sódio (Synth) a 15% e a mistura agitada por 30 segundos. Então, foi adicionado 1,4 mL de água destilada e após 1 hora foi medida a absorbância de luz a 750nm em espectrofotômetro (Evolution 60s, Thermo Scientific, China), utilizando-se cubetas de quartzo. Os fenólicos totais foram obtidos construindo uma curva de calibração de ácido gálico (de 100 a 800  $\mu$ g/mL) e o resultado foi expresso em equivalente de ácido gálico (mg AG/g de resíduo agroindustrial de uva).

#### 4.5.3 Método ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina) 6-ácido sulfônico)

O método ABTS utilizado foi descrito por Re et al. (1999) e modificado por Kuskoski et al. (2004). O radical ABTS é formado por uma reação química com persulfato de potássio em uma relação estequiométrica de 1:0,5. Uma vez formado o radical ABTS, o mesmo foi diluído em etanol (Synth) até obter-se uma medida de absorbância de 0,70 ( $\pm 0,02$ ) a um comprimento de onda de 754 nm, a uma temperatura de equilíbrio de 30°C. A absorbância foi medida em espectrofotômetro modelo (Evolution 60s, Thermo Scientific, China). Foram feitas curvas com soluções-padrão de Trolox (antioxidante sintético similar à vitamina E). Os resultados foram expressos em TEAC, atividade antioxidante equivalente ao Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) em  $\mu\text{mol TEACg}^{-1}$  de amostra.

#### 4.5.4. Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazina)

Os extratos etanólicos obtidos conforme descrição acima foram utilizados para avaliar a atividade antioxidante pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazina) segundo a metodologia descrita por MORADI et al. (2012), com algumas modificações. Aproximadamente 1,25 mg de DPPH foi diluído em 50 mL de etanol (Synth) e absorbância foi medida a 517 nm em espectrofotômetro (Evolution 60s, Thermo Scientific, China) foi determinada até que a concentração da solução apresentasse valores de absorbância entre 0,70  $\pm 0,03$ . Em seguida, uma alíquota de 500  $\mu\text{L}$  do extrato etanólico foi adicionada a 2,5 mL da solução de DPPH e esta solução foi mantida na ausência de luz. A atividade antioxidante foi determinada pela porcentagem de inibição calculada pela Equação 4.

$$AA = \left( \frac{ABS_{DPPH} - ABS_{amostra}}{ABS_{DPPH}} \right) \times 100 \quad (4)$$

onde: AA = atividade antioxidante em %;  $ABS_{DPPH}$  = absorbância da solução de DPPH;  $ABS_{amostra}$  = absorbância da amostra.

#### 4.5.5 Citotoxicidade *in vitro* da farinha de uva

O teste de citotoxicidade foi realizado pelo método da OECD/GD 129 (2010), com algumas modificações. Primeiramente, foram preparados extratos da farinha de uva pela imersão da mesma em meio de cultura celular DMEM (Dubelcco's Modified Eagle Medium) suplementado com 10% (v/v) de DBS (Donnor Bovine Serum). Foram feitas 8 diluições



seriadas dos extratos obtidos em DMEM; (800, 400, 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25 mg/mL). O ensaio foi realizado colocando-se estas diluições seriadas dos extratos em contato com cultura de células BALB/c 3T3 derivada de fibroblastos de camundongos (número ATCC CCL-163), em microplaca de 96 poços (área de 0,28 cm<sup>2</sup>) contendo densidade de  $2,4 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>. A microplaca foi mantida em estufa a 37°C com atmosfera úmida e 5% CO<sub>2</sub> durante 18h. Após este período, as soluções foram substituídas pelo meio de cultura MEM contendo vermelho neutro, e a microplaca foi incubada por mais 3h em estufa. Decorrido este tempo, necessário para a incorporação e fixação do vermelho neutro nas células íntegras, o meio foi descartado e a microplaca lavada com tampão fosfato-salina (PBS) pH 7,4. Após descarte, cada poço recebeu 0,2 ml da solução de ácido acético em etanol (1% ácido acético em etanol 50%). A placa foi agitada em um agitador de microplacas (Sunflower, Biosan) de 20 a 45 minutos e deixada em repouso por 5 minutos. Após esse período foi realizada a medida da densidade óptica através da leitura de absorbância em 540 nm em espectrofotômetro de placa Multiskan EX 355, Thermo Electron Corporation. Com os valores obtidos calculou-se a média da porcentagem de viabilidade celular em relação ao controle de células (100%), que foi colocada em função da concentração do extrato em gráfico para obter as curvas de viabilidade celular. Através desta curva pode-se encontrar o índice de citotoxicidade (IC<sub>50%</sub>) que significa a concentração do extrato que induz 50% de lise ou morte celular.

#### 4.6 Composição centesimal

Os teores de umidade, proteína, cinzas, lipídeos, carboidratos e fibras das amostras de farinha de uva e hambúrguer de salmão cru e assado foram determinados de acordo com as metodologias padronizadas da AOAC (AOAC, 2007). O teor de proteína foi determinado indiretamente a partir do teor de nitrogênio multiplicado por 6,25, em um aparelho de destilação do tipo Kjeldahl. A umidade foi determinada por perda de peso após secagem em estufa a 105 °C até peso constante. A cinza total foi determinada por incineração da amostra a 550 °C em mufla. A extração de lipídios foi determinada pelo aparelho Goldfish. Os carboidratos foram determinados por diferença. Todas as análises foram realizadas em duplicata ou triplicata dependendo da quantidade da amostra disponível. A determinação de fibra alimentar total, solúvel e insolúvel foi realizada em triplicata utilizando a metodologia AOAC 985.29 – enzimático-gravimétrico (AOAC, 1990). O valor energético total foi calculado utilizando os fatores de conversão de energia (BRASIL, 2003) da seguinte forma:

valor energético total (Kcal / 100 g) = (porcentagem de proteína × 4 Kcal/g) + (porcentagem de lipídios × 9 Kcal/g) + (porcentagem total de carboidratos × 4 Kcal/g).

#### **4.7 Determinação da cor instrumental**

A cor instrumental da farinha de uva e do hambúrguer de salmão foi medida na superfície das amostras, utilizando um colorímetro portátil (Konica Minolta, CR-400, Osaka, Japão) calibrado usando um padrão de cor (branco), fornecido pelo fabricante, com as seguintes coordenadas  $Y = 92,7$ ,  $x = 0,3162$  e  $y = 0,3325$ . O instrumento foi padronizado para operar com as seguintes especificações: ângulo de observação de  $2^\circ$  e iluminante D65. As coordenadas do espaço de cor CIE  $L^*a^*b$  foram obtidas em três posições aleatórias na superfície das farinhas e do hambúrguer.

#### **4.8 Determinação do pH**

As amostras de farinha de bagaço de uva (5 g) foram homogeneizadas com 50 mL de água destilada e o pH desta mistura foi medido em triplicata usando um potenciômetro digital (Tec-5, Tecnal, Brasil) combinado com um eletrodo de vidro. O pH do hambúrguer foi determinado diretamente nas amostras usando um eletrodo de punção (HI 99163, HANNA, Romania) com compensação automática de temperatura. As análises foram realizadas em triplicata.

#### **4.9 Diâmetro de partícula**

O diâmetro de partícula da farinha de uva foi determinado por difração a laser através do analisador Cilas Particle Size Analyzer (Modelo 1190, França), utilizando a técnica de Fraunhofer de dispersão a seco, uma pressão de ar de 500 mb e uma frequência de 50Hz, realizado no Laboratório de Farmacotécnica e Cosmetologia da UNIFESP, campus Diadema.

#### **4.10 Capacidade de Retenção de Água (CRA)**

A capacidade de retenção de água na amostra de farinha de uva, foi determinada pelo método descrito por CARCEA-BENCINI (1986), com algumas modificações. Foi pesado 1g de amostra em triplicata, as quais foram colocadas em tubo falcon. A centrifugação ocorreu

nas seguintes condições de 2200g por 30 min a 20°C na centrífuga (Novatécnica, NT810, Brasil). Finalizado a centrifugação, o sobrenadante foi removido cuidadosamente e pesada posteriormente. A capacidade de retenção de água na amostra de hambúrguer foi determinada pelo método (Sánchez-González et al., 2008). Foi pesado 2 g de amostras crua e cozida em triplicata, as quais foram colocadas em papel filtro Whatman nº1 e posteriormente dentro de um tubo falcon. A centrifugação ocorreu nas seguintes condições de 3000g por 10 min a 20°C na centrífuga (Novatécnica, NT810, Brasil). Finalizado a centrifugação, as amostras foram removidas do papel filtro e pesadas posteriormente. A capacidade de retenção de água das amostras foi expressa em gramas de água por grama da amostra base seca.

#### 4.11 Atividade de água (Aa)

A determinação da  $A_a$  das amostras de farinha de uva e de hambúrguer de salmão foram realizadas por medida direta em higrômetro eletrônico (Aqualab® Model 3 TE), à temperatura ambiente constante (25° C), após 10 dias de armazenamento. A determinação foi feita em triplicata.

#### 4.12 Acidez titulável

A acidez titulável na amostra de farinha de uva foi expressa em porcentagem de ácido tartárico, utilizando-se a seguinte fórmula da Equação 5:

$$\% \text{ ácido tartárico} = (V \times M \times f \times PM) / 10 \times P \times n \quad (5)$$

onde: V = volume de NaOH gasto (mL); M = molaridade da solução de NaOH utilizada f = fator de correção obtido para padronização do NaOH = 1,00; MM = massa molecular do ácido tartárico, que é 150; P = massa da amostra; n = número de hidrogênios ionizáveis que para o ácido tartárico é 2.

A titulação para determinação da acidez titulável foi realizada pela neutralização dos ácidos com solução padronizada de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 M em 5 g de amostra em 50 mL de água destilada, seguindo a metodologia descrita nas “Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz” (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). A neutralização foi obtida pelo método potenciométrico quando a titulação atingiu valor de pH 8,1 a 8,2. Em seguida, foi verificado o volume gasto da solução padronizada gasta. Os resultados, em triplicata, foram expressos em g de ácido tartárico/100 g da amostra.

#### **4.13 Análise do perfil de textura (TPA)**

A análise de textura foi realizada nas amostras de hambúrguer assadas e foram acondicionadas, tendo um tamanho final de 2 cm comprimento x 2 cm largura x 2 cm altura. Foi utilizado um texturômetro (Brokfield, CT3 Texture Analyzer, EUA) equipado com probe cilíndrico de ponta plana de 36 mm de diâmetro, seguindo o método adaptado de Bourne (2002), realizando-se uma Análise de Perfil de Textura. As condições operacionais empregadas para a análise foram: a velocidade constante pré-teste de 1mm.s<sup>-1</sup>; velocidade do teste 1mm.s<sup>-1</sup>; velocidade pós-teste 1mm.s<sup>-1</sup>; 9,6mm de compressão; tempo de compressão 5 segundos. Foram obtidos resultados de dureza, elasticidade, coesividade, mastigabilidade e resiliência.

#### **4.14 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)**

Os valores de TBARS nas amostras de hambúrguer cruas e assadas foram determinados em triplicata usando um método de extração descrito por Vyncke (1970) e Sorensen e Jorgensen (1996) com modificações. Para a extração, 5 g da amostra foi homogeneizada em um Ultra Turrax (T 25 digital, IKA, Germany) a 3500 rpm por 45 s com 15 mL de solução homogeneizante [ácido tricloroacético 7,5% (TCA), propyl 3,4,5-Trihydroxy-benzoate 0,1% (PG) e 0,1% de titriplex( EDTA)] (Merck). Após filtração com papel de filtro qualitativo Whattman (12,5 mm), 5 mL do filtrado foram misturados com 5 mL de uma solução aquosa de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,02 M em tubos de ensaio com rosca tampados. As amostras foram incubadas em banho de água a 100 ° C durante 40 minutos e depois arrefecidas em água fria. A absorbância foi medida a 532 e 600 nm por um espectrofotômetro (Evolution 60s, Thermo Scientific, China) contra uma peça em branco consistindo de 5 mL da mesma solução homogeneizante mais 5 mL de solução de TBA.

#### **4.15 Caracterização microbiológica**

A análise microbiológica foi realizada nas amostras de hambúrguer de salmão (controle, BHT, 1% FBU e 2% FB) cruas para verificar a qualidade higiênica do processamento da amostra de acordo com os limites especificados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Agência Brasileira de Vigilância Sanitária). As contagens microbianas foram determinadas pela diluição de 25 g de amostra em 225 mL de água de peptonada estéril (Accumedia, Michigan, EUA) para coliformes termotolerantes, estafilococos coagulase

positivos, salmonella e clostridium sulfito redutor em 225 mL de caldo de lactose (Difco Laboratories, Detroit, MI, EUA) . Após diluição, as amostras foram homogeneizadas usando um stomacher (Marconi, MA 440-CF), durante 2 minuto. Outras diluições decimais seriadas foram preparadas para determinações microbianas. A análise para Salmonella foi realizada, enriquecidas com meio seletivo agar Desoxycholate Citrate (Difco Laboratories, detroit, MI, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. Coliformes termotolerantes foram enumerados usando o teste de fermentação de tubos múltiplos e expresso como o número mais provável (NMP)/g amostra. Estafilococos coagulase positivos foram enumerados inoculando amostras na superfície de placas estéril com agar Mannitol Salt (Acumedia, Michigan,EUA). Clostridium sulfito redutor foram enumerados por inoculação de amostras em placas estéril com sulfito-agar de polimixina-sulfadiazina (Himedia, Mumbai, Índia), sobreposto com 5 mL do mesmo meio e incubados em jarras plásticas de anaerobiose (2,5 L) usando AnaeroGen (Oxoid, Hampshire, Reino Unido). As determinações foram realizadas em duplicado e as contagens expressas como Unidade Formadora de Colônias (UFC)/g amostra.

Para a contagem total de aeróbios mesófilos 25 g de amostra foi homogeneizada em 225 mL de água peptonada 0,1%. Este processo foi realizado em sacos plásticos estéreis adequados em um equipamento homogeneizador de amostras tipo Stomacher (Marconi, MA 440-CF) por 2 minutos. Após a diluição decimal seriada, foram plaqueadas em profundidade alíquotas de 1 mL em meio Plate Count Agar – PCA, em duplicata de cada diluição. Em seguida, as placas foram incubadas a  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  por 48 horas. Após a homogeneização de 25 g de amostra em 225 mL de água peptonada 0,1% e a realização da diluição decimal seriada, uma alíquota de 0,1 mL foi plaqueada em superfície em meio Plate Count Agar-PCA (Accumedia, Michigan, EUA), em 2 placas para cada diluição correspondente. Após o plaqueamento as placas foram incubadas a  $7 \pm 1^\circ\text{C}$  por 10 dias. As placas contadas tanto de mesófilos como psicrotróficos foram as que apresentaram uma faixa de 25 a 250 colônias e o resultado expresso em unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de produto. Todas as análises microbiológicas seguiram as metodologias propostas no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (PETERKIN, 1993).

#### **4.16 Etapa 4: Análise sensorial**

As quatro formulações de hambúrgueres conforme (Tabela 4) foram avaliadas por 110 consumidores com diferentes faixas etárias e classes sociais, de ambos os sexos, recrutados no campus Diadema da UNIFESP em função da sua disponibilidade, interesse e

frequência de consumo de pescados. Antes de iniciarem a avaliação sensorial os consumidores assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) conforme a Resolução 466/12 do Ministério da Saúde, registrado no Comitê de Ética da UNIFESP com o número CAAE: 60794316.5.0000.5505. Cada provador recebeu aproximadamente 10 g de hambúrguer de cada amostra, assados em forno tradicional, da marca Bosch, na temperatura de 160°C, colocados em forma de alumínio, durante 20 minutos, até atingir a temperatura de 76°C no centro geométrico do produto (BRASIL,2013). Na metade do tempo o hambúrguer foi virado, servidos logo após serem assados em pratinho descartável codificado com números de três dígitos aleatórios. A cor, o odor, o sabor, a textura, aparência e impressão global foram avaliados utilizando uma hedônica estruturada verbal, numérica, bipolar, de nove pontos. No final, foi solicitado aos provadores que opinassem em relação à intenção de compra utilizando uma escala de 5 pontos. A ficha utilizada na análise sensorial está apresentada na Figura 7.

Para o cálculo do Índice de Aceitabilidade (I.A) de cada preparação, foi utilizada a seguinte expressão (TEIXEIRA et al., 1987):  $IA (\%) = A \times 100/B$  (1) Em que: A = nota média obtida para o produto; B = nota máxima dada ao produto.

#### **4.17 Análise estatística**

Os dados obtidos no teste de aceitação foram analisados utilizando ANOVA, considerando amostra e consumidor como fontes de variação. Se a diferença foi significativa ( $P < 0,05$ ) foi realizado o Teste de Médias de Tukey. As análises sensoriais foram submetidas à Análise de Variância (ANOVA) utilizando o software Statistica®.

**Figura 5 - Ficha modelo para teste de aceitação**

**FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL DE PESCADO**

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_  
 Data: \_\_/\_\_/\_\_

Você já provou algum produto elaborado com farinha de uva:  
☒ sim ☐ não  
 Qual sua frequência de consumo de salmão:  
☒ Diário ☐ 1 vez por semana ☐ 2 vezes por semana  
☒ 3 vezes por mês ☐ Outra: \_\_\_\_\_

**INSTRUÇÕES**

1. Você está recebendo 4 (quatro) amostras de HAMBÚRGUER DE SALMÃO codificadas. Por favor, prove-as da esquerda para a direita e avalie o quanto você gostou ou desgostou em relação à APARÊNCIA, COR, ODOR, SABOR, TEXTURA e, de um modo geral (IMPRESSÃO GLOBAL) para cada amostra, utilizando-se a escala abaixo.

(9) Gostei extremamente  
 (8) Gostei moderadamente  
 (7) Gostei regularmente  
 (6) Gostei ligeiramente  
 (5) Não gostei nem desgostei  
 (4) Desgostei ligeiramente  
 (3) Desgostei regularmente  
 (2) Desgostei moderadamente  
 (1) Desgostei extremamente

ATRIBUTO SENSORIAL	AMOSTRA Nº: _____	AMOSTRA Nº: _____	AMOSTRA Nº: _____	AMOSTRA Nº: _____
Aparência				
Cor				
Odor				
Sabor				
Textura				
Impressão global				

2. Baseado na Impressão Global desta amostra indique na escala abaixo o grau de certeza com que você compraria ou não compraria esta amostra.

(1) Certamente não compraria  
 (2) Possivelmente não compraria  
 (3) Talvez comprasse, talvez não comprasse.  
 (4) Possivelmente compraria  
 (5) Certamente compraria

AMOSTRA Nº: _____	AMOSTRA Nº: _____	AMOSTRA Nº: _____	AMOSTRA Nº: _____

Comentários: | \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Obrigada pela colaboração!

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 ETAPA 1: Pó do resíduo de uva – secagem por atomização

#### 5.1.1 Determinação da concentração e retenção de antocianinas e compostos fenólicos do pó do bagaço de uva obtido em *spray-dryer*

O resíduo de bagaço de uva descongelado continha cascas, caroços, galhos e folhas secas. Nesta Etapa 1, foi feita uma pré-seleção, separando somente as cascas para a obtenção da polpa. Esta foi filtrada para garantir homogeneidade, evitando problemas de entupimento durante o processo de secagem por atomização. A concentração média de antocianinas na polpa de casca de uva foi de 142mg/100g (b.s). Além das condições operacionais de atomização e extração, a quantidade e a composição das antocianinas presentes nas frutas e/ou bagaço podem diferir de acordo com a espécie, cultivar, maturidade e condições climáticas (SATO et al., 2008). ROCKENBACH et al. (2011) estudaram a quantidade de antocianinas da polpa em *spray-dryer* de diferentes tipos de uvas produzidas no Brasil e a polpa Isabel apresentou uma quantidade de antocianinas totais de 184mg/100g (b.s). O processo de secagem por atomização foi realizado segundo Planejamento Experimental  $2^3 +$  pontos centrais, com as variáveis independentes: temperatura de entrada do ar (Te), vazão alimentação da pasta (Wf) e concentração de adjuvante (CA). E as variáveis dependentes, concentração de antocianinas totais e a porcentagem de retenção das antocianinas ( $R_{ant}$ ) obtidas para os 11 ensaios de atomização em *spray dryer* (Tabela 5).

**Tabela 5 – Matriz do Planejamento experimental com as respostas concentração ( $C_{ant.}$ ) e retenção das antocianinas ( $R_{ant.}$ ) do pó de bagaço de uva obtido por secagem em *spray-dryer*.**

Ensaio	Te (°C)	Wf (g/min)	CA (%)	C antocianinas (mg/100g;b.s)	DM*	R antocianinas (%)
1	160	10	15	4,28	0,82	24,1
2	160	10	10	6,87	0,00	26
3	160	5	15	9,54	0,86	53,8
4	160	5	10	4,88	1,33	19,3
5	190	10	15	16,58	0,87	94,0
6	190	10	10	14,5	0,85	54,8
7	190	5	15	16,21	0,43	92,4
8	190	5	10	11,73	0,43	45,1
9	175	7,5	12,5	14,12	0,83	65,3
10	175	7,5	12,5	9,04	0,21	41,6
11	175	7,5	12,5	12,4	0,79	57,4



DM: Desvio médio; R: retenção . Antocianinas totais: mg cianidina 3-glicosídeo em 100g de bagaço de uva (b.s.)

A eficiência da atomização por microencapsulação está no nível de retenção do composto bioativo no material encapsulado (RÉ, 1998). Os maiores valores de retenção de antocianinas foram obtidos com a maior temperatura de entrada de ar (190 °C) combinada com a maior concentração de proteína de soro de leite na pasta (15%), conforme pode ser observado nos ensaios 5 (94,0%) e 7 (92,4%). A alta taxa de retenção de antocianina, sugere que este tipo de processo pode ser considerado uma alternativa para a preservação da antocianina.

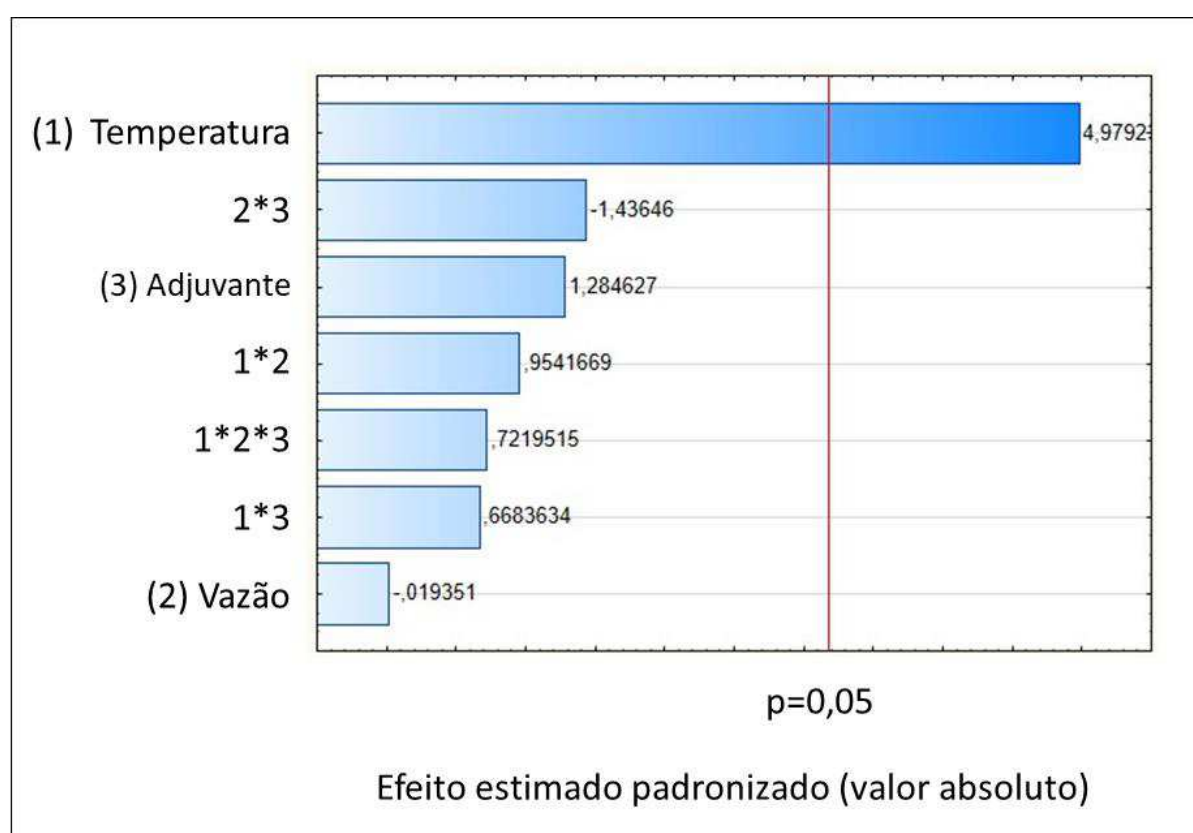
O efeito da temperatura de secagem e da formulação das pastas no nível de retenção de antocianinas também foi observado por outros pesquisadores. Estudos realizados por BERNSTEIN & NOREÑA (2015), avaliaram a atomização da pasta de repolho roxo e obtiveram 97,1% de antocianinas, utilizando 15% de adjuvante similares aos obtidos nesse trabalho com proteína do soro do leite. Tonon et al. (2008) estudaram a retenção de antocianina no pó de açaí produzido por atomização e obtiveram retenção de antocianinas entre 77 e 86%, utilizando a temperatura de saída do ar entre 82 e 114 °C. Ferrari et al. (2012) estudaram o efeito da atomização sobre a pasta de amora usando maltodextrina como agente carreador e obtiveram retenção de antocianinas variando entre 69 e 80%, com temperatura de entrada variando de 146 a 180 °C. A retenção de antocianinas de microcápsulas de polpa Juçara (*Euterpe edulis* Martius) usando gelatina, goma arábica e maltodextrina 20 DE, como agentes carreadores, foi afetada pela temperatura e agente carreador, e a maior retenção de antocianina (83-87%) foi encontrada a 165 °C e a concentração de 5% de agente carreador (BICUDO et al., 2015). Carvalho et al. (2016) observaram alta retenção de antocianinas (96,0%) em micropartículas da polpa de Juçara utilizando a combinação de maltodextrina 10 DE com a goma arábica (75:25) como agente carreador.

Analisando a Figura 6, observa-se que a temperatura teve efeito positivo e estatisticamente significativo ( $P < 0,05$ ) na concentração de antocianinas no pó obtido por atomização. A concentração máxima de antocianinas na pasta (16,58 mg/100g, bs) foi obtida nos níveis superiores de temperatura (190°C), vazão de entrada da pasta (10 mL/minuto) e concentração de agente carreador (15 %), que corresponde ao ensaio 5 do delineamento experimental desse trabalho (Tabela 5).

Nessas condições (ensaio5) a concentração de compostos fenólicos totais no pó foi 162,63 mg ácido gálico/ 100g pó a temperatura do ar de secagem foi a única variável

independente estatisticamente significativa no processo de atomização ( $P < 0,05$ ). Larrauri; Rupérez & Saura-Calixto (1997) avaliaram o efeito da temperatura de secagem sobre a estabilidade e a atividade antioxidante de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) e concluíram que a secagem a 60°C não afeta significativamente essas características das amostras, enquanto que a 100 e 140 ° C houve uma significativa redução de polifenóis (18,6 e 32,6%) e taninos condensados (11,1 e 16,6%), bem como uma diminuição de 28 e 50%, respectivamente, na atividade antioxidante das amostras.

**Figura 6 - Influência das condições operacionais na concentração de antocianinas da farinha.**



## 5.2 ETAPA 2: Farinha de bagaço de uva – leito fixo

### 5.2.1 Determinação da concentração e retenção de antocianinas e compostos fenólicos da farinha do bagaço de uva obtido em estufa com circulação de ar

Diferente do processo de secagem por atomização, a proposta nesta Etapa 2 foi aproveitar a maior parte do resíduo, retirando somente galhos e folhas secas (Figura 7a). Não foi necessário preparo prévio do resíduo, que então passou pelo processo de secagem em leito

fixo (estufa de convecção forçada) até atingir peso constante. O resíduo seco foi triturado em moinho, formando a farinha de bagaço de uva – FBU (Figura 7b).

As concentrações de antocianinas e de compostos fenólicos, e o potencial antioxidante (DPPH e ABTS) foram determinados no extrato etanólico da farinha de bagaço de uva (Tabela 6).

**Figura 7 - Bagaço de uva descongelado (casca e semente): (a) antes do processo de secagem em leito fixo, (b) farinha obtida após secagem e moagem.**



Fonte: CILLI, 2017

**Tabela 6 – Concentração de antocianinas, compostos fenólicos e potencial antioxidante da farinha de uva.**

	Farinha de bagaço de uva
Antocianinas totais <sup>1</sup> (b.s.)	36,45 ± 1,21
Compostos fenólicos totais <sup>2</sup> (b.s.)	669,88 ± 0,01
<i>Potencial antioxidante</i>	
ABTS (μmol de Trolox/g (b.s.)	236,81 ± 3,39
% de redução do radical DPPH	73,31 ± 0,30

b.s.= base seca

<sup>1</sup>Antocianinas monoméricas totais: mg cianidina 3-glicosídeo em 100g de bagaço de uva (b.s.)

<sup>2</sup>Compostos fenólicos totais: mg GAE em 100g de bagaço de uva (b.s.)

### 5.2.2 Concentração de antocianinas e compostos fenólicos

O conteúdo total de antocianinas monoméricas dos extratos avaliados pelo método de pH-diferencial. Os valores de antocianinas totais (equivalentes em cianidina-3-glicosídeo) obtidos através dos extratos etanólicos da farinha de uva Isabel (*Vitis labrusca*) foram menores que os obtidos por Soares et al. (2008) que encontraram 214,26 mg de antocianinas totais nas cascas da cultivar Isabel (em peso seco), correspondente a 21% do conteúdo de

fenólicos totais, utilizando metanol acidificado (0,1% HCl) para a extração das antocianinas do bagaço descongelado da uva. Rockenbach et al. (2011) também reportaram teores superiores de antocianinas no bagaço de uva Isabel liofilizado (184 mg em cianidina-3-glicosídeo por 100 g, em base seca). Essas diferenças nos resultados ocorrem devido à diferença de concentração dos compostos fenólicos na uva em função da variedade, clima, influências sazonais, solo, condições de maturação, viticultura técnicas, eficiência na prensagem, tempo de contato entre as partes sólidas da uva e do mosto (RIBEIRO et al., 2015). Além disso, a mistura água:solvente alcoólico, bem como o tempo de extração podem aumentar a permeabilidade do tecido celular e, assim, permitir uma melhor transferência de massa por difusão molecular e, assim, influenciar a quantidade de compostos fenólicos totais no bagaço de uva.

Os extratos etanólicos da farinha de uva Isabel obtida nesse trabalho apresentaram maior conteúdo de compostos fenólicos que o produto obtido por Shirahigue et al. (2010) utilizando o mesmo processo de extração: 669,88 e 430,55 mg ácido gálico equivalente (GAE) por 100 g de bagaço (b.s.), respectivamente. Esse fato pode estar associado ao tempo de extração ou ainda à irradiação gama à qual a farinha de uva Isabel desse trabalho foi submetida. A irradiação pode aumentar significativamente a estabilidade dos compostos fenólicos e antocianinas (AKBARI et al., 2018), através da inibição da degradação enzimática (AYED; YU; LACROIX, 1999). A quantidade de fenólicos pode ser influenciada também por fatores como maturação, espécie, práticas de cultivo, origem geográfica e estágio de crescimento, condições de colheita, armazenamento e secagem (KIM et al., 2003), além do tipo de solvente usado no processo de extração (LLOBERA CAÑELLAS, 2007). Soares et al. (2008), por exemplo, obtiveram teores maiores de compostos fenólicos comparado aos obtidos nesse trabalho realizando a extração diretamente no bagaço de uva descongelado, sem secagem prévia, utilizando acetona 75% como solvente. Rockenbach et al. (2011) encontraram 3262 mg GAE/100g em bagaço de uva Isabel liofilizado e pulverizado em nitrogênio líquido, utilizando como solução extratora metanol acidificado (0,1% HCl).

Os compostos fenólicos e antocianinas, presentes nas frutas e hortaliças, são um dos principais responsáveis pela atividade antioxidante destas. No entanto, Soares et al. (2008) observaram maior correlação entre a atividade antioxidante do bagaço de uva Isabel e o teor de compostos fenólicos ( $r = 0,99$ ) do que com as antocianinas ( $r = 0,60$ ), indicando que os compostos fenólicos contribuem mais com a atividade antioxidante que as antocianinas.

O teor de antocianinas, compostos fenólicos e a atividade antioxidante do bagaço de uva Isabel, amplamente produzida no Brasil, foram investigados com vistas à sua exploração como fonte potencial de antioxidantes naturais. Embora o pó obtido por secagem por *spray dryer* tenha apresentado alta retenção de compostos antioxidantes, a farinha obtida por secagem em estufa apresentou concentração de antocianinas e compostos fenólicos associado à maior concentração de fibra alimentar na farinha, resultou na escolha do processo de secagem em estufa com circulação forçada de ar como método com maior potencial para ser utilizado na continuidade desse trabalho.

No entanto, o pó obtido na melhor condição e maior concentração de antocianinas da matriz de planejamento experimental por *spray dryer*, realizado nesse trabalho como um estudo adicional, sugere sua aplicação em diversas formulações alimentares como iogurte, sorvetes, pigmentos onde a utilização desse processo proporciona proteção a materiais sensíveis as alterações de temperatura e a proteína de soro de leite (Lacprodan 80) como adjuvante, prossegue uma proposta de revestimento e proteção aos compostos antioxidantes.

### 5.2.3 Potencial Antioxidante (DPPH e ABTS)

A determinação da atividade antioxidante dos extratos etanólicos da farinha do bagaço de uva foi realizada utilizando os métodos ABTS e DPPH. O método DPPH é uma forma fácil, rápida e eficaz de se avaliar o potencial antioxidante de extratos vegetais (MENSOR et al., 2001). A atividade antioxidante da farinha do bagaço de uva determinada como a atividade sequestradora dos radicais livres DPPH● foi 73,31 %. Maior potencial antioxidante do bagaço de uva Isabel pelo método DPPH (90-100%) foi observado por Melo et al. (2008) que utilizaram processo de extração similar ao desse trabalho (etanol:água; 80:20 (v/v)). Esta diferença na atividade antioxidante pode estar relacionada à concentração da amostra no extrato etanólico, onde uma melhor extração pode ter ocorrido utilizando-se uma menor concentração de amostra. Shirahigue et al. (2010) observaram que a capacidade de inibição da oxidação é dose-dependente. Valores maiores de capacidade de eliminação dos radicais DPPH● (89,09 %) foram obtidos utilizando 300 µg de amostra por mL de extrato etanólico. Essa concentração foi menor que a utilizada nesse trabalho.

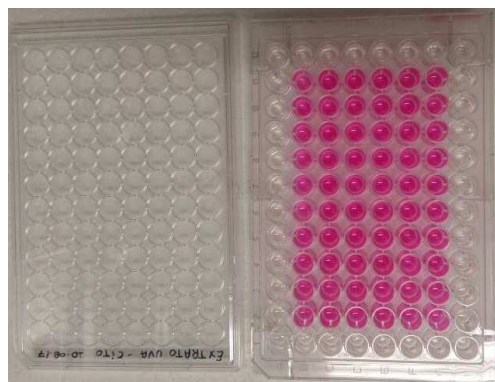
O potencial antioxidante do bagaço de uva pelo método de sequestro do radical livre ABTS● foi 236,81 µmol Trolox por grama do bagaço (b.s.). Alto potencial antioxidante pelo método ABTS para bagaços de uva Isabel (193,36 µmol/g em base seca) também foi

encontrado por Rockenbach et al. (2011). Estudo feito por Melo et al. (2011) a partir de extratos etanólicos de bagaços de uva descongelados, sem secagem prévia, apresentaram menor potencial de sequestro dos radicais ABTS, entre 100 e 150  $\mu\text{mol/g}$  (b.s.). O processo de secagem em altas temperaturas, como ocorre nos processos por convecção, pode aumentar consideravelmente o potencial antioxidante, a despolimerização dos polifenóis (BUSTOS et al., 2018).

#### 5.2.4 Teste *in vitro* da citotoxicidade da farinha de bagaço de uva

O parâmetro mais utilizado para avaliar a toxicidade é a viabilidade celular, que pode ser evidenciada com auxílio de corantes vitais como o vermelho neutro, solúvel em água e que passa através da membrana celular, concentrando-se nos lisossomos, fixando-se por ligações eletrostáticas hidrofóbicas em sítios aniônicos na matriz lisossomal pode ser visualizada como a micro placa (Figura 8).

**Figura 8 - Microplaca usada no teste de citotoxicidade *in vitro* pelo método de incorporação do corante vermelho neutro.**



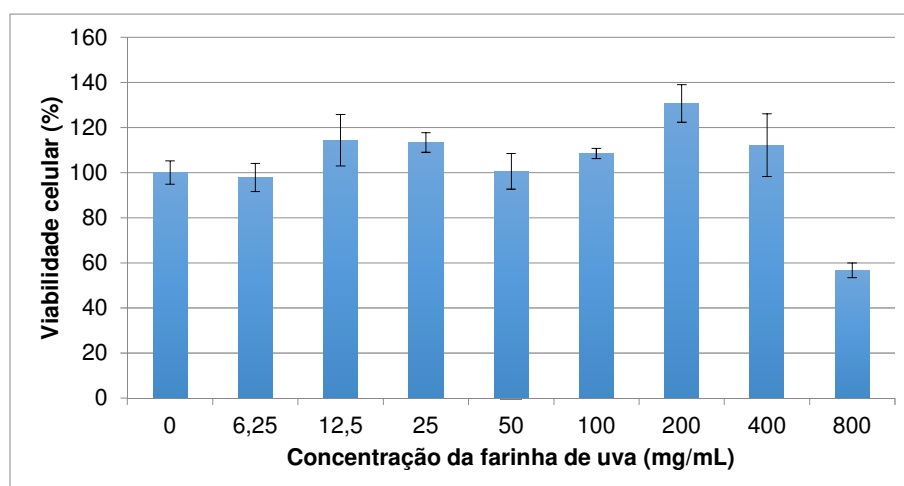
Fonte: Cilli, 2017

Muitas substâncias danificam as membranas resultando no decréscimo de captura e ligação do vermelho neutro. Portanto é possível distinguir entre células vivas e danificadas ou mortas, pela medida de intensidade de cor da cultura celular e, assim, prever o potencial tóxico *in vivo* (ROGERO et al. 2003).

Na Figura 9 está apresentado o gráfico de barras da viabilidade celular da farinha do bagaço da Isabel. Pode-se observar que a farinha de uva apresentou IC<sub>50</sub>% em concentrações maiores que 800 mg/mL.

Baseado nestes resultados, pode ser afirmado que a reformulação do hambúrguer de salmão pela incorporação de 1% e 2% de farinha de bagaço de uva corresponde a 100 e 200 mg/mL, é seguro para o consumo do ponto de vista toxicológico.

**Figura 9 - Viabilidade celular da farinha de uva no teste de citotoxicidade in vitro pela incorporação do corante vermelho neutro.**



### 5.2.5 Composição química da farinha do bagaço de uva

A composição química (teor de umidade, teor de cinzas, teor de proteínas, lipídeos, fibra alimentar e carboidratos) da farinha de bagaço de uva foi determinada, apresentada na Tabela 7.

**Tabela 7 – Valores médios da composição química da farinha do bagaço de uva.**

Composição química	Farinha de bagaço de uva (%, base úmida)
Umidade	14,96 ± 1,56
Cinza	2,75 ± 0,33
Proteínas	6,58 ± 0,22
Lipídeos	2,75 ± 0,04
Fibra alimentar	31,79 ± 0,01
Carboidratos	40,53 ± 1,34

O teor de umidade da farinha foi 14,96%, estando dentro dos limites estabelecidos pela RDC 263/2005, que determina um teor de umidade máxima de 15% para farinhas obtidas de frutos e sementes (BRASIL, 2005). As amostras apresentaram teores de cinzas, proteínas e carboidratos similares aos reportados na literatura. Os valores de cinzas (1,9 %), proteínas (6,5 %) e carboidratos (76,6 %) encontrados por Lopes et al. (2014) foram similares aos

encontrados no presente estudo, onde a porcentagem de carboidratos (72,3%) está fracionada entre fibra alimentar (31,79%) e demais carboidratos (40,53%). A significativa quantidade de fibra alimentar encontrado no bagaço de uva associado aos baixos valores de lipídeos (2,75 %) demonstra que a farinha de bagaço de uva tem potencial nutricional para o uso da na reformulação de alimentos com alegações de propriedades funcionais tais como “rico em fibras” ou “low fat”.

### 5.2.6 Características físico-químicas da farinha do bagaço de uva

A farinha de bagaço de uva foi caracterizada quanto ao pH, capacidade de retenção de água (CRA), acidez titulável, atividade de água (Aa) e parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ ,  $h^*$ ), apresentados na Tabela 8.

**Tabela 8 - Caracterização do bagaço de uva.**

	Farinha de bagaço de uva
pH	3,34 $\pm$ 0,03
CRA	2,01 $\pm$ 0,00
Aa	0,28 $\pm$ 0,02
Acidez titulável	0,88 $\pm$ 0,00
$L^*$	47,5 $\pm$ 1,50
$a^*$	13,08 $\pm$ 1,10
$b^*$	4,81 $\pm$ 0,28
$C^*$	13,94 $\pm$ 1,13
$h^*$	0,35 $\pm$ 0,01
D [3,4]	133,97 $\pm$ 4,34

CRA: g de água/g amostra b.s ; Acidez titulável : % ácido tartárico ; D[3,4]:  $\mu\text{m}$

O bagaço de uva apresentou pH de  $3,34 \pm 0,03$ , que é similar ao pH do mosto da uva Isabel (3,5) (SATO et al., 2008), variedade utilizada neste estudo para obter o bagaço. O pH baixo confere maior estabilidade às antocianinas do bagaço de uva, uma vez que a cor vermelha das antocianinas é alterada em pH superior a 4,5, visto que, as antocianinas apresentam diferentes estruturas em função de sua acidez ou alcalinidade (GIUSTI; WROLSTAD, 2001; LEE; DURST; WROLSTAD, 2005).

A atividade água (Aa) das amostras de farinha do bagaço de uva foi em média  $0,28 \pm 0,06$ . Os baixos valores de atividade de água observados na farinha de bagaço de uva sugerem maior vida de prateleira ao material em função da menor velocidade da maioria das reações de deterioração dos alimentos por microrganismos, enzimas ou reações não-



enzimáticas (LABUZA, 1977), desejável para aplicação desse subproduto na reformulação de alimentos, como fonte de substâncias bioativas.

Neste estudo, o valor CRA foi verificado para avaliar o potencial do bagaço de uva como ingrediente funcional do ponto de vista tecnológico. A capacidade de reter água (CRA) de um alimento é um fator técnico essencial para a maioria dos produtos derivados de carne bovina, aves e pescados por estar diretamente relacionada com o rendimento do processo e a textura dos produtos. Os valores de CRA da farinha do bagaço de uva obtidos nesse trabalho (2,01g de água/g de amostra, b.s.) foram inferiores aos encontrados em outros resíduos agroindustriais desidratados como a casca da maçã (5,91 g de água/g de amostra) (SHARMA; GUPTA; ISSAR, 2017) ou o bagaço do abacaxi (5,32 g de água/g de amostra) (SELANI et al., 2014). O rompimento estrutural da fibra alimentar que ocorre com a redução de tamanho das partículas pode explicar a menor capacidade de retenção de água observada no bagaço de uva quando comparado com outros resíduos desidratados. Savlak; Türker; Yes (2016) observaram que partículas com diâmetro médio < 212 µm afetaram negativamente a CRA do bagaço de uva.

A acidez titulável encontrada no bagaço de uva Isabel foi 0,88 g de ácido tartárico/100g, valor próximo ao encontrado por Santana et. al. (2008) na variedade de uva Patrícia (0,8 g de ácido tartárico/100 mL de suco). A acidez corresponde à soma das formas livres, não salinizadas, de todos os ácidos presentes e nos derivados da uva originam-se principalmente a partir dos ácidos tartárico, málico e cítrico das uvas (GURAK et al., 2012).

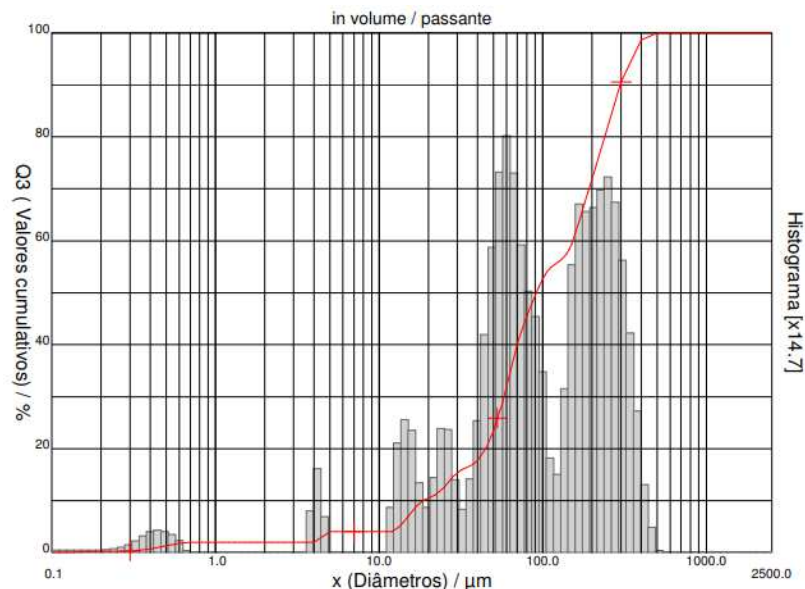
Devido à presença das antocianinas, a farinha de bagaço de uva apresentou valores de a\* e b\* positivos, com baixos valores para (L\*) e para ângulo hue (h\*) que indicam que as amostras apresentavam cor vermelha escura.

#### **5.2.7 Diâmetro de partícula da farinha de bagaço de uva (FBU)**

O histograma da Figura 10 apresenta a distribuição de tamanho das partículas da farinha de bagaço de uva em estufa. Os diâmetros variaram entre 0,1 a 500 µm. Os resultados apresentaram cerca de 10% das partículas com tamanho médio de 22,0 µm, 50% de 96,89 µm e 90% média de 286,22 µm. Como é apresentado na Tabela 5, as partículas obtiveram diâmetro médio D [3,4] de 133,97±4,34 µm, valores próximos ao encontrado por SANTANA et al. (2014) com a secagem da polpa de pequi em *spray dryer*. Os gráficos de distribuição do tamanho de partículas de todos os pós apresentaram-se similares. É possível observar que as

partículas de pó possuem tamanhos variados, estando entre 1 e 80  $\mu\text{m}$  e tamanho médio em torno de 10  $\mu\text{m}$ .

**Figura 10 - Histograma de distribuição de tamanho de partícula da farinha proveniente.**



O diâmetro médio da farinha de uva desidratada utilizada nesse trabalho foi D [3,4]  $133,97 \pm 4,34 \mu\text{m}$ . As distribuições médias observadas nesse estudo foram caracterizadas pelo comportamento multimodal, com larga distribuição de tamanho (0,1 a 500  $\mu\text{m}$ , aproximadamente), onde a presença de heterogenicidade das partículas pode ser atribuída ao processo de aglomeração, indicando a forte capacidade das amostras em atrair moléculas de água do ambiente, fato que também pode ter contribuído para diminuir a CRA do hambúrguer.

### 5.3 ETAPA 3 – Hambúrguer de salmão com Farinha de bagaço de uva

#### 5.3.1 Características físico-químicas do hambúrguer de salmão cru e assado com adição de farinha do bagaço de uva

Quatro tratamentos foram aplicados para a obtenção dos hambúrgueres de salmão: controle (Figura 11a), comercial, com adição de 0,01% BHT (Figura 11b), com adição de 1,0% de FBU (Figura 11c) e com adição de 2% de FBU (Figura 11d).

**Figura 11 - Hambúrgueres de salmão: (a) Controle, (b) com adição de 0,01% de BHT, c) com adição de 1,0% de FBU e (d) com adição de 2,0% de FBU.**



(a) controle

(b) 0,01% BHT

(c) 1,0% FBU

(d) 2% FBU

Fonte: Cilli, 2017.

Parâmetros de cor foram avaliados nas amostras de hambúrguer de salmão (Figura 11) para determinar se a adição de farinha de uva causa alguma alteração na cor das amostras (Tabela 9). A adição de farinha de uva escureceu as amostras, e esse escurecimento foi significativamente maior com o aumento da concentração de farinha de 1% para 2%. Observou-se uma redução significativa ( $P < 0,05$ ) dos valores de  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (vermelho) e  $b^*$  (amarelo),  $C^*$  (croma) e ângulo  $h^*$  (hue) nas amostras de hambúrguer cru que continham FBU quando comparadas com o controle. Já a adição do antioxidante sintético BHT aumentou significativamente a luminosidade das amostras ( $P < 0,05$ ).

**Tabela 9 - Caracterização do hambúrguer de salmão cru e assado (n=3) com adição de farinha de bagaço de uva (FBU).**

	Tratamento <sup>1</sup>			
	Controle	BHT	FBU 1%	FBU 2%
<i>Hamburguer cru</i>				
$L^*$	70,77 ± 0,47 A	73,17 ± 0,65 B	66,29 ± 0,46 C	63,08 ± 0,32 D
$a^*$	11,38 ± 1,05 A	11,73 ± 0,26 AB	10,01 ± 0,35 AB	8,89 ± 0,05 B
$b^*$	22,28 ± 1,33 A	22,89 ± 0,55 A	17,50 ± 0,89 B	13,15 ± 0,12 C
$C^*$	25,02 ± 1,66 A	25,72 ± 0,59 A	20,17 ± 0,95 B	15,87 ± 0,10 B
$h^*$	1,10 ± 0,01 A	1,10 ± 0,00 A	1,05 ± 0,01 B	0,98 ± 0,01 C
pH	5,59 ± 0,06 A	5,75 ± 0,01 B	5,51 ± 0,02 BC	5,44 ± 0,02 C
CRA	74,69 ± 1,57 A	77,23 ± 1,39 A	72,46 ± 1,77 A	73,97 ± 1,24 A
Aa	0,99 ± 0,00 A	0,99 ± 0,00 A	0,99 ± 0,01 A	0,98 ± 0,00 A
<i>Hamburguer assado</i>				
$L^*$	73,10 ± 0,89 A	73,69 ± 0,33 A	73,54 ± 0,71 A	67,40 ± 0,15 B
$a^*$	8,59 ± 0,13 A	9,33 ± 0,47 AB	7,79 ± 0,16 BC	7,03 ± 0,40 C
$b^*$	21,00 ± 0,61 A	22,99 ± 1,74 AB	16,51 ± 0,63 BC	13,68 ± 0,95 C
$C^*$	22,69 ± 0,62 A	24,83 ± 1,70 AB	18,25 ± 0,64 BC	15,38 ± 1,02 C
$h^*$	1,18 ± 0,00 A	1,18 ± 0,02 A	1,13 ± 0,01 AB	1,10 ± 0,01 B
pH	5,65 ± 0,07 A	5,77 ± 0,02 AB	5,56 ± 0,02 B	5,37 ± 0,01 C
Aa	0,99 ± 0,01 A	0,99 ± 0,00 A	0,99 ± 0,00 A	0,99 ± 0,00 A

<sup>1</sup> Letras diferentes na mesma linha diferem significativamente ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Tendência similar nos parâmetros de cor foi observado em pescado moído (cavalinha, *Scomber japonicus*) adicionado com extrato de uva (ÖZALP ÖZEN et al., 2011). Depois de assadas essas diferenças foram mais evidentes nas amostras que continham 2 % de farinha de uva. Amostras de hambúrguer com 2 % de farinha de uva foram as mais escuras e exibiram valores significativamente menores ( $P < 0,05$ ) de luminosidade ( $L^*$ ). Como o BHT é cristal branco, as amostras com esse antioxidante estavam mais claras (menor valor de  $L^*$ ) que as demais. Esse escurecimento da cor dos hambúrgueres pode ser atribuído à adição de farinha de uva que apresentou valores de  $L^*$  relativamente menores (25,5-35,1 %) que as amostras cruas. Selani et al. (2011) também verificaram escurecimento das amostras de frango com a adição de extrato de uva Isabel.

A capacidade de retenção de água (CRA) é a capacidade do músculo de resistir à perda de água, e é muito importante do ponto de vista comercial e de aceitação do consumidor. A água é encontrada na forma livre e ligada. A primeira representa cerca de 90% da água nos tecidos do peixe, que é mantida por ação capilar, principalmente em locais intracelulares, e sua presença é influenciada por mudanças na estrutura da proteína, distribuição de líquido entre locais intra e extracelulares, pH, força iônica e forças físicas durante o processamento de alimentos (JONSSON et al., 2001; OFFER & TRINICK, 1983). Mudanças no conteúdo de água, especialmente em alimentos musculares, podem influenciar importantes parâmetros de qualidade, como textura, aparência e estabilidade de armazenamento. Mais especificamente, a distribuição celular, o estado de ligação e a mobilidade da água são mais importantes do que o teor total de água na determinação da qualidade e estabilidade dos alimentos (RUAN & CHEN, 1998).

### **5.3.2 Composição química do hambúrguer de salmão cru e assado com adição de farinha do bagaço de uva**

A composição centesimal dos hambúrgueres de salmão cru e assado encontra-se na Tabela 10. É importante ressaltar que em todas as formulações foram adicionadas 10% de aveia, e o teor de fibra da aveia foi calculado a partir dos dados da rotulagem nutricional.

Romero et al. (2018) processaram hambúrguer de pintado com porcentagens otimizadas de farinha de arroz (5,66%), farinha de milho (9,55%), farinha de amaranto (10%) e farinha de quinoa (4,20%) e obtiveram valores similares aos encontrados nesse trabalho para umidade (64,43-67,95), cinzas (1,44-2,55), proteínas (12,67-17,14), lipídeos (12,49-20,28) e carboidratos (4,92-7,36).

As amostras assadas apresentaram redução significativa no teor de umidade ( $p < 0,05$ ) ao comparar com as respectivas amostras cruas, para todos os tratamentos. Porém, não houve diferença no teor de umidade entre os tratamentos com adição de farinha de uva quando comparados com o tratamento Controle ou BHT. Todos os hambúrgueres assados apresentaram relação de água:proteína com proporção de aproximadamente 3:1 (2,8-3,2). Selani et al. (2016) constataram que é crucial que essa relação permaneça constante em todas as formulações para efeito de comparação do perfil de textura das amostras entre tratamentos.

A adição de FBU não alterou significativamente os valores de carboidratos, proteínas e lipídeos dos diferentes tratamentos (controle, BHT, 1% FBU e 2% FBU). O teor de fibra alimentar dos hambúrgueres adicionados de fibra utilizando farinha de uva e/ou aveia variou entre 0,92 e 1,46, superiores aos valores encontrados hambúrguer de salmão comercial encontrado no mercado nacional. Por outro lado, os níveis de proteína e lipídeos foram similares ao do produto comercial. A reformulação de produtos cárneos através da adição de fibra alimentar aumenta o valor nutricional e proporciona benefícios para a saúde humana. O aumento da ingestão de fibras tem sido recomendada devido aos seus efeitos na redução do risco de câncer de cólon, diabetes, obesidade e doenças humanas (EASTWOOD, 1992).

**Tabela 10 - Composição centesimal dos hambúrgueres de salmão contendo FBU e BHT (base úmida).**

	Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteínas (%)	Lipídeos (%)	Fibra Alimentar	Carboidratos Totais(%)*
<i>Hambúrguer cru</i>						
Controle	61,1 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,69 ± 0,05 <sup>b</sup>	18,12 ± 0,17 <sup>a</sup>	11,61 ± 0,13 <sup>a</sup>	0,92	7,48
BHT	61 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,49 ± 0,03 <sup>b</sup>	18,62 ± 0,69 <sup>a</sup>	11,04 ± 0,14 <sup>bc</sup>	0,92	7,85
1% uva	60,3 ± 0,54 <sup>a</sup>	1,45 ± 0,05 <sup>b</sup>	18,57 ± 0,72 <sup>a</sup>	11,94 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,19	7,74
2% uva	61,3 ± 0,22 <sup>a</sup>	1,65 ± 0,01	19,74 ± 1,11 <sup>a</sup>	10,97 ± 0,38 <sup>bc</sup>	1,46	6,34
<i>Hambúrguer assado</i>						
Controle	56,1 ± 0,33 <sup>bc</sup>	1,64 ± 0,04 <sup>ab</sup>	19,66 ± 1,07 <sup>a</sup>	12,37 ± 0,51 <sup>bc</sup>	0,92	9,31
BHT	54 ± 1,15 <sup>c</sup>	1,72 ± 0,02 <sup>ab</sup>	19,28 ± 0,71 <sup>a</sup>	13,28 ± 0,07 <sup>bc</sup>	0,92	10,8
1% uva	57 ± 0,41 <sup>bc</sup>	1,63 ± 0,21	17,97 ± 0,71 <sup>a</sup>	11,77 ± 0,03 <sup>cd</sup>	1,19	10,44
2% uva	55,2 ± 0,35 <sup>bc</sup>	1,84 ± 0,18 <sup>a</sup>	18,9 ± 0,79 <sup>a</sup>	12,13 ± 0,01 <sup>d</sup>	1,46	10,47

Letras diferentes na mesma linha diferem significativamente ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

\*: fibra da aveia calculada a partir das informações de rotulagem.

\*\*: calculado por diferença

### 5.3.3 Análise do perfil de textura (TPA)

O efeito da adição de FBU no perfil de textura dos hambúrgueres de salmão como dureza, elasticidade, coesividade, mastigabilidade e gomosidade são mostrados na Tabela 11.

A adição de 2% de FBU aumentou significativamente a dureza, mastigabilidade e gomosidade das amostras ( $P<0,05$ ). O aumento da mastigabilidade e da gomosidade foi fundamentalmente resultado da maior dureza (CARDOSO; MENDES; NUNES, 2008).

Por outro lado, a adição de 2% de FBU diminuiu significativamente a coevisidade dos produtos ( $P<0,05$ ). García et al. (2002) observaram maior dureza e coevisidade em produtos cárneos com a adição de 3% de cereais (trigo e aveia) e resíduos de frutas (pêssego, maçã e laranja) que causaram diminuição das notas sensoriais.

**Tabela 11 - Propriedades de textura (n=10) de hambúrguer de salmão assado adicionado de farinha de uva.**

	Tratamento			
	Controle	BHT	FBU 1%	FBU 2%
Dureza (N)	154,19 ± 7,22 <sup>a</sup>	171,56 ± 3,92 <sup>a</sup>	100,15 ± 3,94 <sup>a</sup>	176,22 ± 16,39 <sup>b</sup>
Elasticidade	9,91 ± 1,76 <sup>a</sup>	8,34 ± 0,12 <sup>a</sup>	8,62 ± 1,65 <sup>a</sup>	6,53 ± 0,26 <sup>a</sup>
Índice de elasticidade	1,00 ± 0,18 <sup>a</sup>	0,84 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,86 ± 0,16 <sup>a</sup>	0,66 ± 0,03 <sup>a</sup>
Coevisidade	0,35 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,36 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,35 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,22 ± 0,03 <sup>b</sup>
Mastigabilidade	535,01 ± 99,45 <sup>a</sup>	518,91 ± 17,80 <sup>ab</sup>	304,77 ± 61,14 <sup>ab</sup>	239,61 ± 33,71 <sup>b</sup>
Gomosidade	54,17 ± 4,17 <sup>a</sup>	62,37 ± 2,48 <sup>a</sup>	35,00 ± 1,75 <sup>b</sup>	36,44 ± 4,34 <sup>b</sup>

Letras diferentes na mesma linha diferem significativamente ( $P<0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Com a redução do pH, na adição de 2% de FBU no hambúrguer de salmão, as proteínas miofibrilares são menos solúveis e tendem a se agregar atribuindo ao aumento da dureza. Estudos feitos por Bou et al. (2017), com hambúrguer de robalo com adição (1% e 2%) de ácido cítrico, também relatou aumento de dureza.

A adição de 2% de FBU observa-se um aumento no teor de proteínas, contribuindo, em geral, para uma maior dureza.

Troutt et al. (1992), também relataram em estudo com carne moída de pescado com adição de aveia, que o parâmetro textural observado de coesividade foi menor, quanto maior a concentração de fibra com baixo teor de gordura, relatos semelhantes nesse estudo com a adição de aveia e 2% FBU. Trabalho semelhante de García et al. (2009) com casca de tomate 6% em hambúrguer bovino apresentou aumento do parâmetro textural de dureza com a adição de fibras.

Pescado não contém fibra, e assim a adição de fibras (aveia, FBU) para produtos da pesca pode ser altamente útil, significa não só melhorar aspectos técnicos (funcionalidade e

propriedades antioxidantes), mas também de conferir benefícios para a saúde (regulação intestinal, antioxidante aspectos fisiológicos, etc).

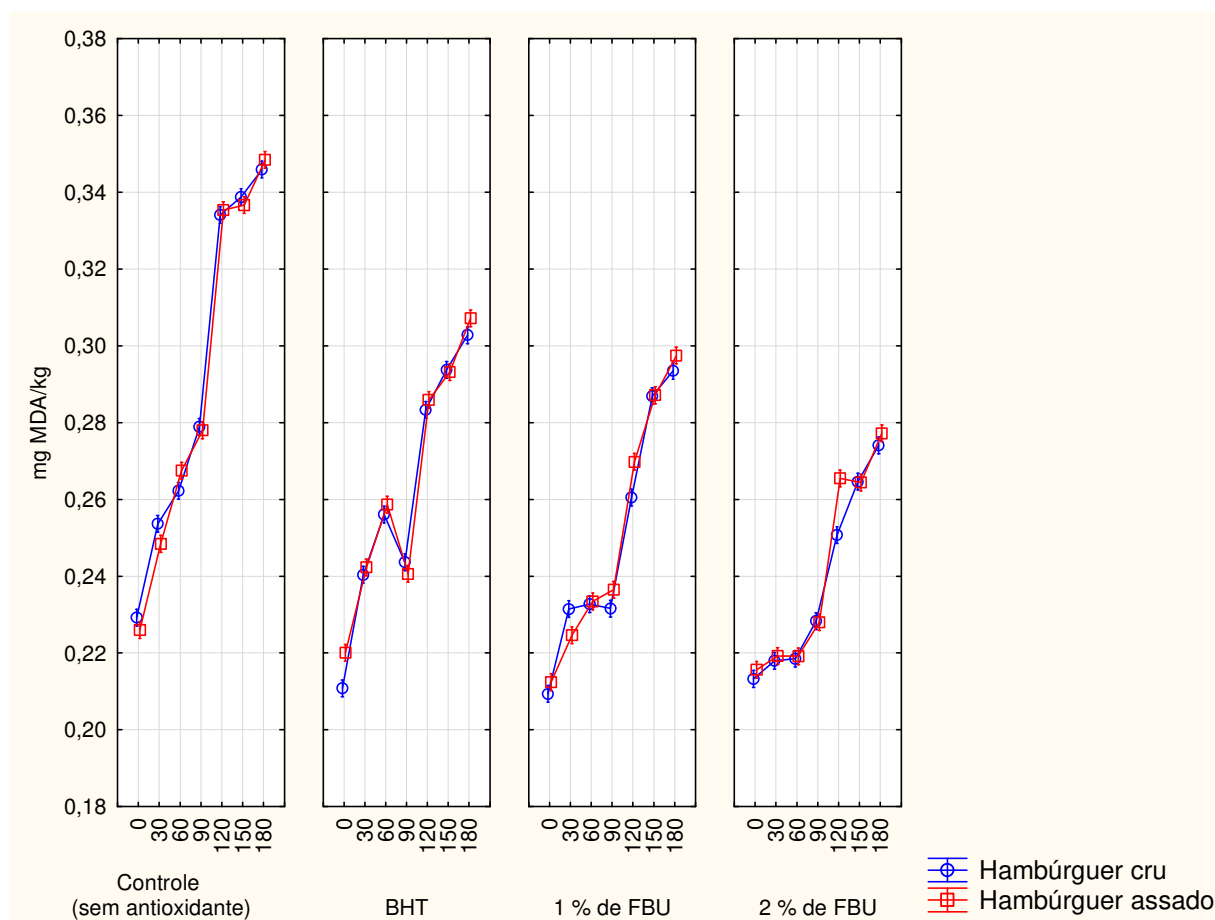
#### 5.3.4 Oxidação lipídica (TBARS)

O teste de TBARS quantifica o malonaldeído, um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formado durante o processo oxidativo e é muito utilizado para predição da estabilidade oxidativa do alimento analisado (OSAWA; DE FELÍCIO; GONÇALVES, 2005).

O efeito da adição da FBU sobre a estabilidade oxidativa do hambúrguer de salmão está apresentado na Figura 12. O tratamento (Controle, BHT, 1% FBU, 2% FBU) influenciou significativamente os níveis de TBARS ( $P < 0,05$ ) nos hambúrgueres cru e cozido (prontos para o consumo). A ordem dos tratamentos com base nos valores de TBARS do hambúrguer (crus ou cozidos) foi: Controle > BHT > 1% FBU > 2% FBU. A rancidez oxidativa aumentou significativamente em todos os períodos avaliados ( $P < 0,05$ ). No entanto, mesmo nas amostras do tratamento controle, o valor de TBARS nunca excedeu 0,35 mg MDA/kg e foi, portanto, inferior ao nível máximo aceitável (1-2  $\mu\text{mol}$  MDA por grama de gordura ou 4-8mg MDA por Kg de produto) proposto por Connell (1995) para pescado.

A adição de fibras antioxidantes em pescado, como a FBU, tem sido amplamente demonstrada como estratégia eficaz para proteger os ácidos graxos e diminuir a oxidação lipídica (VIJI et al, 2017). Nossos resultados corroboram os achados anteriores, indicando que a farinha de bagaço de uva diminuiu significativamente a formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), como o malonaldeído, e exibiu efeito protetor superior ao observado com o antioxidante sintético BHT. A forte correlação entre compostos fenólicos (flavonóides e antocianinas) e a atividade antioxidante do bagaço de uva já foi previamente reportado por vários autores (PEIXOTO et al., 2018; ROCKENBACH et al., 2011b). O efeito antioxidante do bagaço de uva tem sido atribuído à capacidade dos compostos fenólicos para eliminar os radicais livres, para formar complexos de íons metálicos, e para prevenir ou reduzir o desenvolvimento de oxigênio singlet (NARDOIA et al., 2018).

**Figura 12 – Efeito da farinha do bagaço de uva (FBU) sobre o teor de malonaldeído (MDA) (mg / kg) de hambúrgueres de salmão após armazenamento congelado por até 180 dias.**



\*BHT: hidroxitolueno butilado

### 5.3.5 Caracterização microbiológica dos hambúrgueres de salmão

As contagens microbianas de todos os tratamentos (controle, BHT, 1% FBU, 2% FBU) foram  $< 3$  NMP/g para coliformes termotolerantes e  $< 10$  UFC/g para *Clostridium* sulfito redutor e ausência de *Salmonella* 25 g (Tabela 12). Os hambúrgueres obtidos por todos os tratamentos apresentaram contagens dentro dos limites estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001) para produtos derivados de pescado congelado: coliformes termotolerantes:  $10^2$  NMP / g, estafilococos coagulase positivos:  $5 \times 10^2$  CFU / g, e *Salmonella*: ausência / 25 g. Os hambúrgueres não foram afetados pela adição de farinha de bagaço de uva que foi esterilizada por irradiação antes das análises. De acordo com as contagens microbianas, os hambúrgueres de salmão desenvolvidos neste trabalho eram seguros e adequados ao consumo do ponto de vista microbiológico, nas condições



experimentais deste teste. As contagens de mesófilos e psicrotróficos aeróbios apresentaram valores menores que os estabelecidos pela *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF, 2005) para que a qualidade do pescado seja considerada satisfatória ( $< 10^5$  UFC/g). A legislação brasileira (BRASIL, 2001) não possui padrões para a contagem de microrganismos mesófilos, psicrotróficos e coliformes termotolerantes para produtos derivado de pescado.

**Tabela 12 - Contagens bacterianas (UFC/g) das amostras de hambúrguer de salmão.**

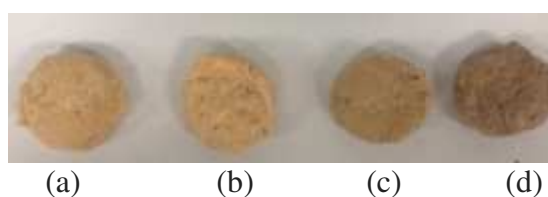
	Controle	BHT	FBU 1%	FBU 2%
Coliformes a 45°C (UFC/g)	$5 \times 10$	$5 \times 10$	ausência	$5 \times 10$
Coliformes termotolerantes (NMP/g)			$< 3$	
<i>S. aureus</i> (UFC/g)	$8,5 \times 10^2$	$6,5 \times 10^2$	$7,5 \times 10^2$	$5,5 \times 10^2$
<i>Salmonella</i> sp (UFC/g)	ausência	ausência	ausência	ausência
Clostrídios sulfito redutores a 46°C(UFC/g)			$< 10$	
Psicrotróficos (UFC/g)	$1,3 \times 10^3$	$2,9 \times 10^3$	$4,0 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$
Mesófilos (UFC/g)	$3,0 \times 10^4$	$5,0 \times 10^4$	$3,2 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$

#### 5.4 ETAPA 4: Análise Sensorial

Uma das principais preocupações quanto uso de resíduos agroindustriais são os efeitos negativos sobre as propriedades organolépticas dos alimentos aplicados (RAEISI et al., 2015). Com relação à cor, os resultados da avaliação sensorial (Tabela 13) corroboram com os resultados da avaliação instrumental apresentada na Tabela 9, em que foram observadas significativas alterações nas amostras que continham FBU. Esta alteração de cor de amostras, como anteriormente mencionado, pode ser devido à adição da FBU que apresentou cor mais escura, como pode ser observado na Figura 13.

A adição de FBU levou à diminuição das notas sensoriais de aparência, cor e impressão global dos hambúrgueres em comparação com as amostras Controle (sem antioxidante) ou que continham antioxidante sintético (BHT).

**Figura 13 – Amostras de hambúrguer de salmão enriquecido com fibra utilizando farinha de bagaço de uva e aveia: (a) controle, (b) BHT, (c) 1% FBU, (d) 2% FBU**



Fonte: Cilli, 2017.

Nas amostras que continham maior concentração de FBU, 2%, o sabor e a textura receberam notas menores comparadas com as amostras Controle e com BHT. Em geral, os testes afetivos sozinhos não são suficientes para se compreender as nuances que envolvem a aceitação e a intenção de compra de um alimento, por não conseguir capturar as relações entre as sensações emocionais e os atributos sensoriais. A cor de um alimento, se diferente da convencional, pode desencadear sensações negativas, como a desconfiança, e afetar a percepção de outros atributos como sabor e aparência, a aceitação e a intenção de compra, como pode ser observado nesse trabalho (Tabelas 14 e 15). Informações sobre as propriedades funcionais associadas aos hambúrgueres com FBU poderiam ter aumentado a percepção de alimento saudável e a relativizar a importância da aparência e da cor em relação aos potenciais benefícios à saúde. Alimentos com a informação “contém antioxidantes naturais” e alegações de saúde nas fichas sensoriais foram associados a atributos positivos, enquanto os produtos sem informações foram associados com atributos sensoriais negativos (MIRABALLES & ADRIANA 2018). No desenvolvimento de novos alimentos os pesquisadores e a indústria devem considerar o peso de vários fatores, entre eles as informações da rotulagem, que podem ser bastante relevantes para evocar percepções emocionais e sensoriais positivas e aumentar a intenção de compra do consumidor.

**Tabela 13 - Análise sensorial\* de aceitação (n=110) de hambúrguer de salmão adicionado de farinha de uva (média  $\pm$  desvio-padrão).**

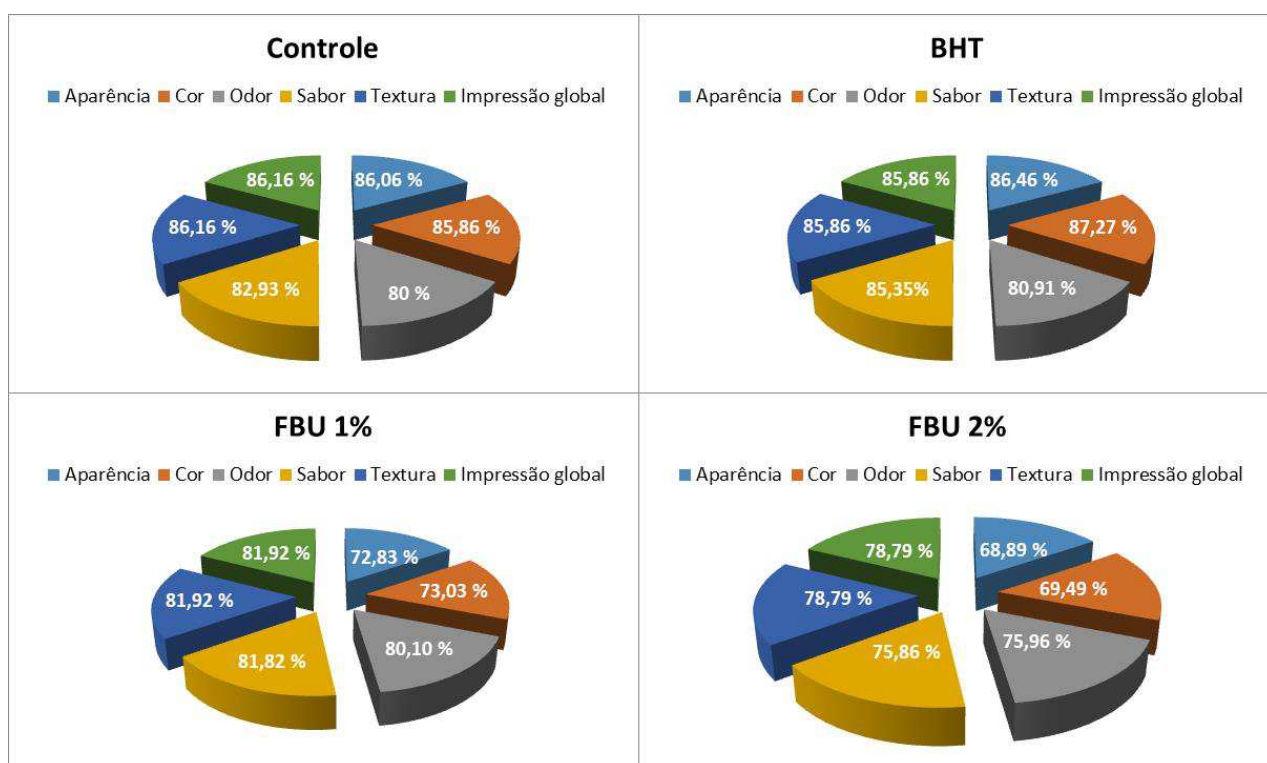
	Tratamento			
	Controle	BHT	FBU 1%	FBU 2%
Aparência	7,75 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	7,78 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	6,55 $\pm$ 0,15 <sup>b</sup>	6,20 $\pm$ 0,18 <sup>b</sup>
Cor	7,73 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	7,85 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	6,57 $\pm$ 0,15 <sup>b</sup>	6,25 $\pm$ 0,18 <sup>b</sup>
Odor	7,20 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>	7,28 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>	7,21 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>	6,84 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>
Sabor	7,46 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	7,68 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	7,36 $\pm$ 0,16 <sup>ab</sup>	6,83 $\pm$ 0,18 <sup>b</sup>
Textura	7,75 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>	7,73 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	7,37 $\pm$ 0,15 <sup>ab</sup>	7,09 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>

\*Letras diferentes na mesma linha diferem significativamente ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey; Escala hedônica de nove pontos onde: 9 = gostei extremamente, 8 = gostei muito, 7 = gostei moderadamente, 6 = gostei ligeiramente, 5 = nem gostei nem desgostei, 4 = desgostei ligeiramente, 3 = desgostei moderadamente, 2 = desgostei muito e 1 = desgostei extremamente.

Apesar da maior preferência dos consumidores pela cor e aparência dos hambúrgueres dos tratamentos Controle e BHT, os hambúrgueres com farinha de bagaço de uva apresentaram notas sensoriais  $> 6,0$  para todos os atributos avaliados.

Para um produto ser aceito pelos provadores deve atingir uma porcentagem maior ou igual a 70% (TEIXEIRA, 1987). Pelos resultados obtidos (Tabela 14), todas as formulações de hambúrguer alcançaram índices de aceitabilidade maiores que 70%.

**Tabela 14 - Índice de aceitabilidade (%) para as diferentes formulações de hambúrguer de salmão.**



Os hambúrgueres com FBU avaliados, demonstraram alto índice de intenção de compra indicando um bom potencial para comercialização (Tabela 15).

**Tabela 15 - Intenção de compra (%) para as diferentes formulações de hambúrguer de salmão.**

	C	BHT	FBU 1%	FBU 2%
Certamente compraria	37,27	36,36	23,64	20,91
Possivelmente compraria	35,45	43,64	35,45	28,18
Talvez comprasse, talvez não comprasse	17,27	11,82	22,73	25,45
Possivelmente não compraria	6,36	7,27	10,00	17,27
Certamente não compraria	3,64	0,91	8,18	8,18

De acordo com as fichas de avaliação sensorial, alguns provadores relataram que o sabor característico de peixe estava mascarado nas amostras mais escuras (com farinha de bagaço de uva). As amostras não apresentaram diferenças significativas entre si para o atributo odor. A adição de extrato de uva também não afetou o odor da carne de truta.

(RAEISI et al., 2015) ou de frango (SELANI et al., 2011). Assim, para o atributo odor a adição de farinha de uva obteve resultados positivos.

## 6 CONCLUSÕES

A desidratação do bagaço de uva da variedade Isabel tanto por atomização quanto por convecção, mostraram-se excelentes opções para agregar valor aos resíduos agroindustriais que são geralmente descartados pelas indústrias.

O bagaço de uva (cascas e sementes) é uma boa fonte de compostos fenólicos e antocianinas, com alta capacidade antioxidante e não citotóxico.

A farinha de uva obtida por secagem em leito fixo do bagaço (cascas e sementes) apresentou alto teor de fibra alimentar e baixo teor de lipídeos, reforçando seu potencial de aplicação em outras matrizes alimentícias.

A redução da umidade do bagaço de uva através de processos de secagem simples e de baixo custo que não prejudiquem o conteúdo de compostos ativos é uma etapa essencial que pode incrementar a aplicação desse resíduo nas indústrias de alimentos, farmacêutica e cosmética, como fonte de corantes e antioxidantes naturais.

A adição de 1 a 2% de farinha de bagaço de uva mostrou potencial superior ao do antioxidante sintético BHT para retardar a oxidação lipídica do hambúrguer de salmão durante armazenamento a -18°C por 6 meses, e esse efeito foi dose-dependente.

A adição de farinha de bagaço de uva aumentou a estabilidade oxidativa do hambúrguer de salmão, sem prejudicar a sua aceitação sensorial.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKBARI, M. et al. Gamma irradiation affects the total phenol, anthocyanin and antioxidant properties in three different persian pistachio nuts. **Natural Product Research**, v. 32, n. 3, p. 322–326, 2018.

ALAKALI, J.S.; IRTWANGE, S.V.; AGBALI, F.A. Physico – Thermodynamic properties of soy-gari. **Journal of Food Procesung and Preservation**, 2010.

ALESON-CARBONELL, L. et al. Functional and sensory effects of fibre rich ingredients on breakfast fresh sausages manufacture. **Food Science and Technology International**, v. 11, n. 2, p. 89-97, 2005b.

AMENSOUR, M.; SENDRA, E.; PÉREZ-ALVARES, J.Á.; ABRINI, J.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. Effect of Myrtle (*Myrtus communis*) Extracts on Storage Stability of Chicken Frankfurters. **International Journal of Biotechnology for Wellness Industries**, v. 4, p. 1-11, 2015.

AOAC. (1990). Official methods of analyses of association of analytical chemist (15th ed.). Washington DC: AOAC.

AOAC. (2007). Official methods of analysis of AOAC international. 18th ed. Washington: Association of Official Analytical Chemists.

ARIHARA, K. Strategies for designer novel functional meat products. **Meat Science**, v.74, p.219-229, 2006.

AYED, N.; YU, H. L.; LACROIX, M. Improvement of anthocyanin yield and shelf-life extension of grape pomace by gamma irradiation. **Food Research International**, v. 32, n. 8, p. 539–543, 1999.

BARRETO, A.C.S. Efeito da adição de fibras como substitutos de gordura em mortadela. 189f, 2007Tese(Doutorado) – **Curso de Tecnologia de Alimentos**, Unicamp, Campinas, 2007.

BASTOS, Aline. *Bagaco de uva vira alimentos funcionais*. Brasília: Embrapa Agroindústria De Alimentos, 2014 Disponível em: < <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2235712/bagaco-de-uva-vira-alimentos-funcionais>> Acessado em 02 Mai. 2018

BERNSTEIN, A.; NOREÑA, C. P. Z. Encapsulation of red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. capitata L. f. rubra) anthocyanins by spray drying using different encapsulating agents. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 58, n. 6, p. 944-952, 2015.

BERRY, B.W. Low fat level effects on sensory, shear, cooking, and chemical properties of ground beef patties. **Journal of Food Science**, v.57, n.3, p. 537-540, 1992.

BICUDO, M.O.P.; JÓ, J.; OLIVEIRA, G.A.; CHAIMSOHN, F.P.; SIERAKOWSKI, M.R.; FREITAS, R.A. Microencapsulation of Juçara (*Euterpe edulis* M.) Pulp by Spray Drying Using Different Carriers and Drying Temperatures. **Journal Drying Technology**, v.33, p.153-161, 2015.

BLANDO, F., GERARDI, C., & NICOLETTI, I. Sour cherry (*Prunus cerasus* L.) anthocyanins as ingredients for functional foods. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, 2004, 253–258, 2004.

BORDÉRIAS, A.J. New complementary Technologies for extending shelf life of chilled seafood products. **Refrigeration and Aquaculture**. Proceedings of the conference of: IIR Commission C2, Bordeaux, France, p.265-274, 1996.

BOU, R.; CLARET, A.; STAMATAKIS, A.; MARTÍNEZ, B.; GUERRERO, L. Quality changes and shelf-life extension of ready-to-eat fish patties by adding encapsulated citric acid. **Food Tecnology**, 2017.

BOURNE, M. C. Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement. San Diego, CA, United States of America: **Academic Press**, 2002.

BOURNE, M. In: **Food Texture and Viscosity**. New York, NY: Academic Press, p.201, 2002.

BOYD, L. C. et al. Inhibition of oxidative rancidity in frozen cooked fish flakes by tert-butylhydroquinone and rosemary extract. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 61, n. 1, p. 87–93, 1993.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, 1997b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n.12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Poder Executivo, Brasília, DF, 2 de jan, p. 1-54, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Aprova o Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. Resolução n. 360, de 23 de dezembro de 2003. Brasília: Diário Oficial da União de 26 de dezembro de 2003.

BRASIL,<(http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2017/01/producaode-peixes-no-brasil-cresce-com-apoio-de-pesquisas-da-embrapa),>. Acesso em: 23 de fev 2018.

BREWER, M. S. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, n. 4, p. 221–247, 2011.

BUSTAMANTE, M. A.; PÉREZ-MURCIA, M. D.; PAREDES, C.; MORAL, R.; PÉREZ-ESPINOSA, A.; MORENO-CASALLES, J. Short-term carbon and nitrogen mineralisation in soil amended with winery and distillery organic wastes. **Bioresource technology**, v. 98, n. 17, p. 3269-3277, 2007.

BUSTOS, M. C. et al. The Influence of Different Air-Drying Conditions on Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 11, p. 2714–2723, 2018.

CABRITA, L., FOSSEN, T., & ANDERSEN, O. M. Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solutions. **Food Chemistry**, v.68, p.101-107, 2000.

CARCEA-BENCINI, M. Functional properties of drum-dried chickpea (*Cicer arietinum* L.) flours. **Journal of Food Science**, v.51, p.1518-1521, 1986.

CARDOSO, C.; MENDES, R.; NUNES, M. L. Development of a healthy low-fat fish sausage containing dietary fibre. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 43, n. 2, p. 276–283, 2008.

CASTAÑEDA-OVANDO, A.; PACHEDO-HERNÁNDEZ, M.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M.E.; RODRÍGUEZ, J.A.; GALÁN-VIDAL, C.A. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v.113, p.859-871, 2009.

CHAMP, M. et al. Advances in dietary fibre characterization. 1. Definition of dietary fibre, physiological relevance, health benefits and analytical aspects. **Nutrition Research Reviews**, v. 16, p. 71-82, 2003.

CHOE, E.; MIN, D. B. Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 5, n. 4, p. 169–186, 1 set. 2006.

CIVILLE, G. V.; SZCZESNIAK, A. S. GUIDELINES TO TRAINING A TEXTURE PROFILE PANEL. **Journal of Texture Studies**, v. 4, n. 2, p. 204–223, 1973.

CONNELL, J. J. Control of Fish Quality (4th ed.). **London, UK: Fishing News Books Ltd.**, 1995.

DAMAR, I.; ESKI, A. Antioxidant capacity and anthocyanin profile of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) juice. **Food Chemistry**, n.135, p.2910–2914, 2012.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A.R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains - Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Culiacán, v.40, n.3, p.173-289, 2000.

DÍAZ, P.; NIETO, G.; BAÑÓN, S.; GARRIDO, M. D. Determination of shelf life of *sous vide* salmon (*Salmo Salard*) based on sensory attributes. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 8, 2009.

DONGOWSKI, G. Rheological behaviour of  $\beta$ -glucan preparations from oat products. **Food Chemistry**, v. 93, n. 2, p. 279-291, 2005.

EASTWOOD, M. A. The physiological effect of dietary fiber: An update. **Ann.Rev.Nutr.**, v.12, p.19-35, 1992.

EIBOND, L. S.; REYNERTSON, K. A.; LUO, X. D.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E.J.; “Anthocyanin antioxidants from edible fruits”; **Food Chemistry**, v. 84(1), p. 23, 2004.

FAN, W.; CHI, Y.; ZHANG, S. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice. **Food Chemistry**, 2008.



FARVIN, K. H. S., GREJSEN, H. D. AND JACOBSEN, C. Potato peel extract as a natural antioxidant in chilled storage of minced horse mackerel (*Trachurus trachurus*): Effect on lipid and protein oxidation. **Food Chem.** 131: 843-851, 2012.

FERNÁNDEZ-GINÉS, J. M. et al. Lemon albedo as a new source of dietary fiber: application to bologna sausages. **Meat Science**, v. 67, n. 1, p. 7-13, 2004.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. et al. Physico-chemical and microbiological profiles of “salchichón” (Spanish dry-fermented sausage) enriched with orange fiber. **Meat Science**, v. 80, n.2, p. 410-417, 2008.

FERRARI, C.C., GERMER, S.P.M., AGUIRRE, J.M. Effects of spray-drying conditions on the physicochemical properties of blackberry powder. **Drying Technol**, v. 30, 154–163, 2012.

FRANCIS, G.; MAKKAR, H.; BECKER, K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. **Aquaculture**, v.199, p. 197-227, 2001.

FRASER, P.D.; BRAMLEY, P.M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. **Progress in Lipids Research**, v. 43, p.228, 2004.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Quantitative Methods for Anthocyanins. **Journal of Food Science**, v. 33, n. 1, p. 72–77, 1968.

GAI, F. et al. Effect of Red Grape Pomace Extract on the Shelf Life of Refrigerated Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Minced Muscle. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, 2015.

GAO, M., FENG, L., JIANG, T., ZHU, J., FU, L., YUAN, D. AND LI, J. The use of rosemary extract in combination with nisin to extend the shelf life of pompano (*Trachinotus ovatus*) fillet during chilled storage. **Food Control**, v.37, p.1-8, 2014.

GARCÍA, J.; NICODEMUS, N.; CALANB, R.; DE BLAS, C. Effect of inclusion of defatted grape seed meal in the diet on digestion and performance of growing rabbits, **Journal Animal Science**, v. 80, n.1, p. 162-170, 2002.

GARCÍA-LOMILLO, J.; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M. L. Applications of Wine Pomace in the Food Industry: Approaches and Functions. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 2017.

GARCÍA, M.L., CÁCERES, E.; & SELGAS, M.D. Utilisation of fruit fibres in conventional and reduced-fat cooked-meat sausages. **Journal of the Science of Food & Agriculture**. v.87, p.624-631, 2007.

GARCÍA, M. L.; CALVO, M. M.; SELGAS, M. D. Beej hamburgers enriched in lycopene using dry tomato peel as an ingredient. **Meat Science**, v.83, p. 45-49, 2009.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, p. 0–13, 2001.

GOMES, L. M. M. Inclusão de Carotenoides de Pimentão Vermelho em Ciclodextrinas e Avaliação da Sua Estabilidade, Visando Aplicação Em Alimentos. Dissertação (Mestre em Ciências Aplicadas), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 108p, 2012.

GO´MEZ-GUILLE´N, C., SOLAS, T., BORDERI´AS, J. & MONTERO, P. Effect of heating temperature and sodium chloride concentration on ultrastructure and texture of gels made from giant squid (*Dosidicus gigas*) with addition of starch, iota-carrageenan and egg white. **Zeitschrift fu´r Lebensmittel Untersuchung und Forschung**, v. 202, p.221–227, 1996.

GOUW, V.P . ; JUNG, J . ; SIMONSEN, J. ; ZHAO, Y.Y. Fruit pomace as a source of alternative fibers and cellulose nanofiber as reinforcement agent to create molded pulp packaging boards. **Science Direct**, 2017.

GRAM, L.; HUSS, H.H. Microbiological spoilage of fish and fish products. **International Journal of Food Microbiology, Amsterdam**, v.33, p.121-137, 1996.

GRAY, J. Dietary fiber: definition, analysis, physiology and health. Bélgica: **International Life Sciences Institute (ILSI)**, p.44, 2006.

GURAK, P. D.; SILVA, M.C.;MATTA, V.M.; ROCHA-LEÃO, M.N.; CABRA, L.M.C. Avaliação de parâmetros físico-químicos de sucos de uva integral, néctares de uva e néctares de uva light. **Revista de Ciências Exatas**, RJ, EDUR, v.27/31,n.1, p. 07-22, 2012.

HAMINIUK, C, W.I., MACIEL, G.M., PLATA-OVIEDO, M.S.V., PERALTA, R.M. Phenolic compounds in fruits - an overview. **International Journal of Food Science and Tecnology**, 2012.

HARVEST, M. Salmon Farming Handbook, 10 may, 2017. Disponível em: <[http://marineharvest.com/about/news-and-media/news\\_new2/marine-harvest-osemhg-2017-salmon-industry-handbook-](http://marineharvest.com/about/news-and-media/news_new2/marine-harvest-osemhg-2017-salmon-industry-handbook-)>. Acesso em 6 ago. 2017.

HASSIMOTTO, N. M.; MOTA, R. V.; CORDENUNSI, B. R.; LAJOLO, F. M. Physico-chemical characterization and bioactive compounds of blackberry fruits ( *Rubus* sp) grown in Brazil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas**, v.28, n.3, p. 702-708, 2008.

HOUICHER, A., KULEY, E., BENDEDDOUCHE, B. AND OZOGUL, F. Effect of *Mentha spicata* L. and *Artemisia campestris* extracts on the shelf life and quality of vacuum packed refrigerated sardine (*Sarda pilchardus*) fillets. **J. Food Prot.**v. 76, p. 1719-1725, 2013.

HUTCHINGS, J.B. Chemistry of food colour. In: Food colour and apperance. Cambridge: **Blackie Academic & Professional**, v. 10, p.401-410, 1994.

ICMSF. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. **Microorganisms in foods**. New York: **Kluwer Academic/Plenum Publishers**, v. 6, n. 2, p. 763, 2005.

INSTITUTO ADOLF LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos -4a Edição** **1a Edição** **Edição** **Digital**. Disponível em: <[http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016\\_3\\_19/analisedealimentosial\\_2008.pdf](http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf)>. Acesso em: 6 ago. 2017.

JONSSON, A.; SIGURGISLADOTTIR, H.; HAFTEINSSON, H.; KRISTBERGSSON, K. Textural properties of raw Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets measured by different methods in comparison to expressible moisture. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.7, p.81-89, 2001.

KAACK, K.; LAERKE, H. N.; MEYER, A. S. Liver paté enriched with dietary fibre extracted from potato fibre as fat substitutes. **European Food Research and Technology**, v. 223, n. 2, p. 267-272, 2006.

KARNOPP, AR ; MARGRAF, T ; MACIEL, LG ; SANTOS, JS ; GRANATO, D. Chemical composition, nutritional and in vitro functional properties of by-products from the Brazilian organic grape juice industry. **Journal International Food Research**, v.24, p.207-214, 2017.

KENAR, M., OZOGUL, F., AND KULEY, E. Effects of rosemary and sage tea extracts on the sensory, chemical and microbiological changes of vacuum-packed and refrigerated sardine (*Sardina pilchardus*) fillets, Inter. **J. Food Sci. and Technology**, v.45, p.2366-2372, 2010.

KIM, D.O.; JEONG, S.W.; LEE, C.Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry**, Oxford, UK, v. 81, n. 3, p. 321-326, June 2003.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERORO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; GARCIA-PARILLA, M. C.; FETT, R. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. **Rev. Bras. Ciênc. Tecnol. Alim**, v. 24, n.4, 691-693, 2004.

LABUZA, T. P. THE PROPERTIES OF WATER IN RELATIONSHIP TO WATER BINDING IN FOODS: A REVIEW. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 1, n. 2, p. 167–190, 1977.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of Drying Temperature on the Stability of Polyphenols and Antioxidant Activity of Red Grape Pomace Peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 4, p. 1390–1393, 1997.

LEÃO, D.P., FRANCA, A.S., OLIVEIRA, L.S., BASTOS, R., COIMBRA, M.A., Physicochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flours prepared from pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) fruit by-products, **Food Chemistry**, v. 225. p. 146-153, 2017.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 88, n. 5, p. 1269–1278, 2005.

LEVI, M. A. B.; SCARMINIO, I. S.; POPPI, R. J.; TREVISAN, M.G. TREVISAN. Three-way chemometric method study and UV-Vis absorbance for the study of simultaneous degradation of anthocyanins in flowers of the *Hibiscus rosa-sinensis* species. **Talanta**, v. 62, p.299-305, 2004.

LI, T. T., LI, J. R., HU, W. Z., ZHANG, X. G., LI, X. P. AND ZHAO, J. Shelf-life extension of crucian carp (*Carassius auratus*) using natural preservatives during chilled storage. **Food Chem.**v.135,p.140-145,2012.

LLOBERA, A., CANELLAS, J. Dietary fiber content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*) Pomace and stem. **Food Chem**, v. 101, p. 659–666, 2007.

LOPES, L. D. et al. Fatty acid profile, quality lipid index and bioactive compounds of flour from grape residues. **Ciência e Investigacion Agrária**. v. 41, n. 2, p. 225–234, 2014.

LÓPEZ-GÁLVEZ, D.E.; LA HOZ, L.; FERNÁNDEZ, M.; ORDÓÑEZ, J. Use of carbon dioxide enriched atmospheres in the refrigerated storage at 2–7°C of salmon (*Salmo salar*) steaks. **Eur Food Res Technol**, v. 210, p. 179–188, 2000.

LÓPEZ O.P.; JIMÉNEZ A.R.; VARGAS F.D. et al. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains – characteristics, biosynthesis, processing, and stability, **Critical Reviews Food Science Nutrition**, v. 40, n. 3, p. 173–289, 2000.

MAQSOOD, S. AND BENJAKUL, S. Effect of kiam (*Cotylelobium lanceolatum* Craib) wood extract on the haemoglobin-mediated lipid oxidation of washed Asian sea bass mince. **Food Bioprocess**. v. 6. p. 61–72, 2013.

MARJA, P.K.; JOHANNA, H.; VELIMATTI O.; MARINA, H. Berry anthocyanins: isolation, identification and antioxidant activities. **J Sci Food Agric**, v. 83, p. 1403–1411, 2003.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V.; RUIZ, M.V.; VISENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 6, p. 761–770, 2006.

MARTINEZ-DELGADO, A.; KHAUNDUAL, S.; VILLANUEVA-RODRIGUEZ. Chemical stability of astaxanthin integrated into a food matrix: Effects of food processing and methods of... **Food Chemistry**, p. 23–30, v. 225, 2017.

MELDRUM, R.J.; SMITH, R.M.M.; ELLIS, P.; GARSIRE, J. Microbiological quality of randomly selected ready-to-eat foods sampled between 2003 and 2005 in Wales, UK. **International Journal of Food Microbiology**, v. 108, p. 397–400, 2006.

MELLO, L. M. R. “Vitivinicultura brasileira: Panorama 2014”. Bento Gonçalves: **Embrapa Uva e Vinho**. p. 1–6, 2015 (Comunicado Técnico, 175). Disponível em: <<https://www.embrapa.br/uva-e-vinho/busca-de-publicacoes/-publicacao/1025934/vitivinicultura-brasileira-panorama-2014>> acessado em 27 Jul. 2017.

MENDES, A. C.G.; RETTORE, D.M.; RAMOS, A. L.S.; CUNHA, S. F. V.; OLIVEIRA, L. C.; RAMOS, E. M. Milano type salami elaborated with fibers of red wine byproducts. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 44, n. 7, p. 1291–1296, 2014.

MENSOR, L.L.; MENEZES, F.S.; LEITÃO, G.G.; REIS, A.S.; DOS SANTOS, T.C.; COUBE, C.S.; LEITÃO S.G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytother**, v. 15, p. 127–130, 2001.

MIELNIK, M.B.; OLSEN, E.; VOGT, G.; ADELIN, D.; SKREDE, G. Grape seed extract as antioxidant in cooked, cold stored turkey meat. **LWT-Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 39, n. 3, p. 191–198, 2006.

MORADI, M.; TAJIK, H.; ROHANI, S. M. R. R.; OROMIEHIE, A. R.; MALEKINEJAD, H.; ALIAKBARLU, J.; HADIAN, M. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract. **Food Science and Technology**, v. 46, p 477-484, 2012.

MOYER RA, HUMMER KE, FINN CE, FREI B, WROLSTAD RE. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: vaccinium, rubus, and ribes. **J Agric Food Chem** , v.50,p.519–525, 2002.

NARDOIA, M. et al. Effect of polyphenols dietary grape by-products on chicken patties. **European Food Research and Technology**, v. 244, n. 2, p. 367–377, 2018.

NAVARRETE, P, ESPEJO. R.T.; ROMERO, J. Molecular analysis of microbiota along the digestive tract of juvenile Atlantic Salmon (*Salmo salar*). **Springer. Microbiol Ecology**, v.57, n.3, p. 550-561, 2009.

NEIVA, C. R. P. et al. Fish crackers development from minced fish and starch: an innovative approach to a traditional product. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 4, p. 973–979, 2011.

NICKELL, D.C.; SPRINGATE, J. R. C. Pigmentation of farmed salmonids. In: Kestin, S.C.; Warris, P. D. (Eds). **Fish Farmed Quality**. Oxford: Blackwell Science, p. 58-75, 2001.

OECD. Test No. 129. Guidance document on using cytotoxicity tests to estimate starting doses for acute oral systemic toxicity tests, 2010.

OFFER, G.; TRINICK, J. On the mechanism of water holding in meat: The swelling and shrinking of myofibrils. **Meat Science**, v.8, p.245-281, 1983.

OSAWA, C. C.; DE FELÍCIO, P. E.; GONÇALVES, L. A. G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: Métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 655–663, 2005.

OSPINA-ECHEVERRI, J. C., SIERRA, A., OCHOA, O., PÉREZ-ALVAREZ, J. A., & FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. Substitution of saturated fat in processed meat products: A review. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 52, p. 113–122, 2012.

OSTERMEYER, S. T. S. C. U. Determination of astaxanthin and canthaxanthin in salmonid. **Eur Food Res Technol**, p. 787–791, 2005.

OTTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; SPOTO, M.H.F. Proteínas do pescado – Processamento com intervenção na fração proteica. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Barueri, SP: Manole, p. 99-134, 2006.

ÖZALP ÖZEN, B. et al. Effect of plant extracts on lipid oxidation during frozen storage of minced fish muscle. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 4, p. 724–731, 2011.

ÖZOGUL, F., KULEY, E., AND KENAR, M. 2011. Effects of rosemary and sage tea extract on biogenic amines formation of sardine (*Sardina pilchardus*) fillets. **Int. J. Food Sci. Tech.** 46: 761–766, 2011.

OZVURAL, E.B.; VURAL, H. Grape seed flour is a viable ingredient to improve the nutritional profile and reduce lipid oxidation of frankfurters. **Meat Science**, v.88, p.179-183, 2011.

PARLAPANI, F. F. A.; HAROUTOUNIAN, S. A. B.; NYCHAS, G.J.E.; CHAS C , IOANNIS, S. Microbiological spoilage and volatiles production of gutted European sea bass stored under air and commercial modified atmosphere package at 2°C. **Bozaris a Food Microbiology**, v.50, p. 44-53, 2015.

PEIXOTO, C. M. et al. Grape pomace as a source of phenolic compounds and diverse bioactive properties. **Food Chemistry**, v. 253, p. 132–138, 2018.

PEREIRA, D. **Desenvolvimento de microcápsulas bioativas de coprodutos de suco e vinho da uva visando sua aplicação como antioxidante natural em patê de carne de frango**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Pato Branco, PR, 135f, 2015.

PETERKIN, P. I. Compendium of methods for the microbiological examination of foods (3rd edn). **Trends in Food Science & Technology**, v. 4, n. 1939, p. 199, 1993.

PEZESHK, S., REZAEI, M. AND HOSSEINI, H. Effect of turmeric, shallot extracts and their combinations on quality characteristics of vacuum packaged rainbow trout stored at 4 ± 1°C. **J. Food Sci**, v. 76, p. 387-391, 2011.

PINELO, M. et al. Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 2111–2117, 2005.

PROSKY, L. What is fibre? Current controversies. **Trends in Food Science and Technology**, v. 10, n. 8, p. 271-275, 1999.

QIU, X. et al. Inhibition of lipid oxidation in frozen farmed ovate pompano (*Trachinotus ovatus* L.) fillets stored at -18 °C by chitosan coating incorporated with citric acid or licorice extract. **Journal of the science of food and agriculture**, 2016.

RAATZ, S. K. et al. Baking reduces prostaglandin, resolvins, and hydroxy-fatty acid content of farm-raised Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 20, p. 11278–11286, 2011.

RAEISI, M. et al. LWT - Food Science and Technology Effect of carboxymethyl cellulose-based coatings incorporated with Zataria multiflora Boiss . essential oil and grape seed extract on the shelf life of rainbow trout fillets. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 898–904, 2015.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 26, n. 9/10, p.1231-1237, 1999

RECORD, I. R., DREOSTI, I. E., & MCINERNEY, J. K. Changes in plasma antioxidant status following consumption of diets high or low in fruit and vegetables or following dietary

supplementation with an antioxidant mixture. **British Journal of Nutrition**, v. 85, n.4, p. 459–464, 2001.

RIBEIRO, L. F. et al. Profile of bioactive compounds from grape pomace by spectrophotometric chromatographic and spectral analyses. v. 1007, p. 72–80, 2015.

ROCKENBACH, I. I. et al. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 174–179, 2011 a.

ROCKENBACH, I. I. et al. Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) pomace from Brazilian winemaking. **Food Research International**, v. 44, n. 4, p. 897–901, 2011b.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenóides e saúde: Temas atuais. In: **Ciência de Alimentos - Avanços e Perspectivas**. Mercadante, A.Z.; Bobbio, F.O.; Bobbio, P.A.; Pereira, J.L.; Pastore, G.M. (eds.). Campinas, Brasil, vol. II, cap. 58, p. 216-222, Brasil, 2001.

ROGERO, S. O. et al. Teste in vitro de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Materials Research**, v. 6, n. 3, p. 317–320, 2003.

RUAN, R.; CHEN, P.L. Review of: Water in Foods and Biological Materials. **Drying Technology**, v.16, p.9-10, 1998.

RUFINO, M.S.M., ALVES, R.E., DE BRITO, E.S., PÉREZ-JIMÉNEZ, J., SAURA-CALIXTO, F., MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 428 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996-1002, 2010.

SÁNCHEZ-ALONSO, I.; HAJI-MALEKI, R.; BORDERÍAS, A. J. Wheat fiber as a functional ingredient in restructured fish products. **Food Chemistry**, v. 100, n.3, p. 1037-1043, 2007.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, I.; CARMONA, P.; MORENO, P.; BORDERÍAS, J.; SÁNCHEZ-ALONSO, I.; RODRÍGUEZ-CASADO, A.; CARECHE, M. Protein and water structural changes in fish surimi during gelation as revealed by isotopic H/D exchange and Raman spectroscopy. **Food Chemistry**, v.106, p.56-64, 2008.

SANTANA, M. T. A.; SIQUEIRA, H. H.; LACERDA, R.J.; LIMA, L. C. O. Caracterização físico-química e enzimática de uva " Patricia" cultivada na região de Primavera do Leste - MT. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.1, p.186-190, 2008.

SARMENTO, F.; BERNAUD, R.; RODRIGUES. Fibra alimentar - Ingestão adequada e efeitos sobre a saúde do metabolismo. **Arq Bras Endocrinol Metab**. v.6, p.57, 2013.

SASSE, A.; COLINDRES, P.; BREWER, M. S. Effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of cooked, frozen pork patties. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 1, p. 1–6, 2009.

SATHIVEL, S. Chitosan and protein coatings affed yield, moisture loss, and lipid oxidation of pink salmon ( *Oncorhynchus gorbuscha*) fillets during frozen storage. **Journal of Food Science**, Champaign, v.70, n.8, p.2005.

SATO, A. J. et al. Fenologia e demanda térmica das videiras “Isabel” e “Rubea” sobre diferentes porta-enxertos na Região Norte do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 2, p. 283–292, 2008.

SAVLAK, N.; TÜRKER, B.; YES, N. Effects of particle size distribution on some physical , chemical and functional properties of unripe banana flour. **Food Chemistry**, v. 213, n. 4, p. 180–186, 2016.

SÁYAGO-AYERDI, S. G.; BRENES, A.; GOÑI, I. Effect of grape antioxidant dietary fiber on the lipid oxidation of raw and cooked chicken hamburgers. **LWT – Food Science and Technology**, v. 42, n. 5, p. 971-976, 2009.

SCHERR, C. et al. Fatty Acid and Cholesterol Concentrations in Usually Consumed Fish in Brazil. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 2014.

SEA FOOD BRASIL. Disponível em: < <http://seafoodbrasil.com.br/consumomundial-de-20kg-per-capita-e-al-com-aquicultura-40-maior-ate-2025-conclusoes-sofia-2016/>>. Acesso em: 23 de fev 2018.

SELANI, M. M. et al. Wine industry residues extracts as natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage. **Meat Science**, v. 88, n. 3, p. 397–403, 2011.

SELANI, M. M. et al. Characterisation and potential application of pineapple pomace in an extruded product for fibre enhancement. **Food Chemistry**, v. 163, p. 23–30, 2014.

SELANI, M. M. et al. Effects of pineapple byproduct and canola oil as fat replacers on physicochemical and sensory qualities of low-fat beef burger. **Meat Science**, v. 112, p. 69–76, 2016.

SELMİ, S. AND SADOK, S. The effect of natural antioxidant (Thymus vulgaris Linnaeus) on flesh quality of tuna (Thunnus thynnus (Linnaeus)) during chilled storage. **Pan-Am. J. Aquat. Sci**, v.3, p. 36-45, 2008.

SHARMA, P. C.; GUPTA, A.; ISSAR, K. Effect of Packaging and Storage on Dried Apple Pomace and Fiber Extracted from Pomace. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 3, p. 1–10, 2017.

SHI, C., CUI, J., YIN, X., LUO, Y. AND ZHOU, Z. Grape Seed and clove bud extracts as natural antioxidants in Silver carp (hypophthalmichthys molitrix) fillets during Chilled storage: effect on lipid and protein oxidation. **Food control**, v.40, p. 134-139, 2014.

SHIRAHIGUE, L.D.; PLATA-OVIEDO, M.; ALENCAR, S.M.; D'ARCE, M.A.B.R.; VIEIRA, T. M. F. S.; OLDONI, T. L. C.; CONTRERAS- CASTILHO, C.J. Wine industry residue as antioxidant in cooked chicken meat. **International Journal of Food Science and Technology**, v.45, p.863-870, 2010.

SILVA, G.J.F.; CONSTANT, P.B.L.; FIGUEIREDO, R.W.; MOURA, S.M. Formulação e estabilidade de corantes de antocianinas extraídas das cascas de jabuticaba (Myrciaria ssp.). **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n.3, p. 429–436, 2010.



SILVA, M.C.; SOUZA, V.B.; THOMAZINI, M.; SILVA, E.R.; SMANIOTTO, T.; CARVALHO, R.A. et al. Use of the jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) depulping residue to produce a natural pigment powder with functional properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, p. 203–209, 2014.

SIMÕES, M.R., et al. *Physicochemical and microbiological composition and yield of thai-style tilapia fillets (*oreochromis niloticus*)*. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**. Campinas, v.27, p. 608-613, 2007.

SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R., & LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–ciocalteu reagent. **Methods of Enzymology**, v.299, p. 152–178, 1999.

SOARES, M.; WELTER, L.; KUSKOSKI, E.M.; GONZAGA, L.; FETT, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 1, p. 59-64, Mar. 2008a.

SOARES, M.; WELTER, L.; KUSKOSKI, E. M.; GONZAGA, L.; FETT, R. “Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel”. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 59-64, 2008.

SOCACIU, C. **Food Colorants: Chemical and functional properties**. Editor, Carmen Socaciu. CRC Press: Boca Raton, 2008, 633p.

SOUZA,V.B.; FUJITA,A.; THOMAZINI, M.; SILVA, R.E.; LUCON, J.F.; GENOVESE, I.M.; FÁVARO-TRINDADE,C.S. Functional properties and stability of spray-dried pigments from Bordo grape (*Vitis labrusca*) winemaking pomace. **Food Chemistry**,v.164, p.380-386, 2014

SORENSEN GITTE; JORGENSEN SOREN STORGAARD. A critical examination of some experimental variables in the 2-thiobarbituric acid (TBA) test for lipid oxidation in meat products. **Z Lebensm Unters Forsch**, v. 202, n. 3, p. 205–210, 1996.

SPERANZA, B. et al. Microbiological and sensorial quality assessment of ready-to-cook seafood products packaged under modified atmosphere. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 9, 2009.

STEFANUT MN, CATA A, POP R, TANASIE C, BOC D, IENASCU I, ORDODI.V. Anti-hyperglycemic effect of bilberry, blackberry and mulberry ultrasonic extracts on diabetic rats. **Plant Foods Hum Nutr**, v. 68, p.378–384, 2013.

STEENBLOCK, R. L. et al. The effects of oat fiber on the properties of light bologna and fat-free frankfurters. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 9, p. 1409-1415, 2001.

TABATA, Y. A.; RIGOLINO, M. G.; TSUKAMOTO, R. Y.; TAKAHASHI, N. S. Incubação de ovos de salmão do atlântico (*salmo salar*) landlocked em sistema de recirculação de água. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 8, n. 2, 2011.

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E.; BARBETA, P. A. Análise sensorial dos alimentos. Florianópolis: UFSC, p.182, 1987.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. "Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying". **Journal of Food Engineering**, Oxford, v.88, n.3, p.411-418, 2008.

TROUTT, E. S.; HUNT, M. C.; JOHNSON, D. E.; CLAUS, J.R.; KASTNER, C. L.; KROPF, D. H. Characteristics of low-fat ground beef containing texture-modifying ingredients. **J Food Sci**, V. 57, P.19–24, 1992.

TSENG, A.; ZHAO, Y. Effect of Different Drying Methods and Storage Time on the Retention of Bioactive Compounds and Antibacterial Activity of Wine Grape Pomace (Pinot Noir and Merlot). **Journal of Food Science**, v. 77, n. 9, 2012.

TURHAN, S., SAGÝR, I. AND TEMIZ, H. Oxidative stability of brined anchovies (*Engraulis encrasicolus*) with plant extracts. **Int. J. Food Sci. Technol.** v. 44,p. 386-393, 2009.

UCAK, I., OZGUL, Y. AND DURMUS, M. The effects of rosemary extract combination with vacuum packing on the quality changes of atlantic mackerel fish burgers. **Int. J. Food Sci. Tech**, v. 46, p. 1157-1163, 2011.

VASCO, C., RUALES, J., KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, p.816- 823, 2008.

VERMA, A. K.; SHARMA, B. D.; BANERJEE, R. Effect of sodium chloride replacement and apple pulp inclusion on the physico-chemical, textural and sensory properties of low fat chicken nuggets. **LWT – Food Science and Technology**, v. 43, n. 4, p. 715-719, 2010.

VIIJ, P. et al. Role of Plant Extracts as Natural Additives in Fish and Fish Products - A Review Role of Plant Extracts as Natural Additives in Fish and Fish Products - **A Review**. n. December, 2017.

VRHOVSEK, U., MASUERO, D., PALMIERI, L., MATTIVI, F. Identification and quantification of flavonol glycosides in cultivated blueberry cultivars. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 25, p. 9-16, 2012.

VYNCKE, W. Direct determination of the TBA value in trichloroacetic acid extract of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette-Scifen Anstrichmittel**, v.72, p. 1084–1087, 1970.

WINARNI, A., EKO, S., ISMAIL, M. A. AND MOHAMMAD SHAFIUR, R. Effect of alloe vera (*Alloe vera*) and crown of god fruit (*Phaleria macrocarpa*) on sensory, chemical, and microbiological attributes of Indian mackerel (*Restrelliger neglectus*) during ice storage. **Int. Food Res.** v. 19, p. 119-125, 2012.

YERLIKAYA, P.; GOKOGLU, N. Original article Inhibition effects of green tea and grape seed extracts on lipid oxidation in bonito fillets during frozen storage. **International Journal of Food Science & Tecnology**. v.45, p. 252–257, 2010.

YI, S., LI, J., ZHU, J., LIN, Y., FU, L., XEN, W. AND CHEN, X. Effect of tea polyphenols on microbiological and biochemical quality of Collichthys fish ball. **J. Sci.Food**,v. 91,p.1591-1597, 2001.

YILMAZ, I. Effects of rye bran addition on fatty acid composition and quality characteristics of low-fat meatballs. **Meat Science**, v. 67, n.2, p. 245-249, 2004.

YOSHIDA, C. M.P.; MACIEL, V.B.V.; MENDONÇA, M. E. D.; FRANCO, T. T. Chitosan biobased and intelligent films: Monitoring pH variations. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, p. 83 e 89, 2014.

YU, J., & AHMEDNA, M. Functional components of grape pomace: Their composition, biological properties and potential applications. **International Journal of Food Science & Technology**, 2013.

ZAERI, M., RAMEZANI, Z., EN-TAVASOLY, S. AND CHADORBAI, M. Coating Effects of Orange and Pomegranate Peel Extracts Combined with Chitosan Nanoparticles on the Quality of Refrigerated Silver Carp Fillets. **J.Food Pres.** Doi: 10.1111/jfpp.12462, 2015.